

تخفيف المقاومة النباتية ضد الآفات (للمبيدات)



الأستاذ الدكتور

أ.د. زيدان هندي عبد الحميد

أستاذ كيمياء المبيدات والسموم

كلية الزراعة - جامعة عين شمس

الناشر
كانزا جروب

تحفيز المقاومة النباتية ضد الآفات

(لا للمبيدات)

إعداد : الأستاذ الدكتور

زيدان هندي عبد الحميد زيدان

أستاذ كيمياء المبيدات والسموم

كلية الزراعة - جامعة عين شمس

الناشر :

كارا حروف

١٦ شارع الفلاح برج الهدى - متفرغ من شارع شهاب المهندسين جيزة -

جمهورية مصر العربية

ت. ف. / ٣٣٠٥٣٦٠٥ - ٣٣٠٥٣٦٠١ - ٣٣٠٥٣٦٠٢ (202)

الطبعة

الاولى ٢٠١٠ (جميع الحقوق الطبع والنشر محفوظة للناشر)

رقم الإيداع ٢٠١٠/١٦١٤٧

لا يجوز طبع او استنساخ او نقل او تصوير اى جزء من مادة الكتاب باى طريقة

كانت الا باذن كتابى مسبق من الناشر

إهداء

الى والدي ووالدتي

(رحمة الله عليهما)

الى الزوجة العزيزة الفاضلة الزوجة التي شاركتني مر الحياة وحلوها

وكانت لي عوناً كبيراً ... ولاسرتي خير راعياً

المرحومة بإذن الله تعالى

أ.د. نجوي محمود محمد حسين

رئيس بحوث معهد بحوث وقاية النبات

مركز البحوث الزراعية - وزارة الزراعة

« اللهم يا حنان يا منان يا واسع الغفران اغفر لهم وارحمهم وعافهم واعفوا

عنهم واكرم نزلهم ووسع مدخلهم واغسلهم بالماء والثلج والبرق ونقهم من

الذنوب والخطايا كما ينقى الثوب الأبيض من الدنس »

إهداء

إلى أبنائي الأعزاء

عمرو زيدان - أيمن زيدان - خالد زيدان

أساتذتي وزملائي

بكلية الزراعة - جامعة عين شمس - الجامعات الأخرى

ومراكز البحوث والمعاهد البحثية

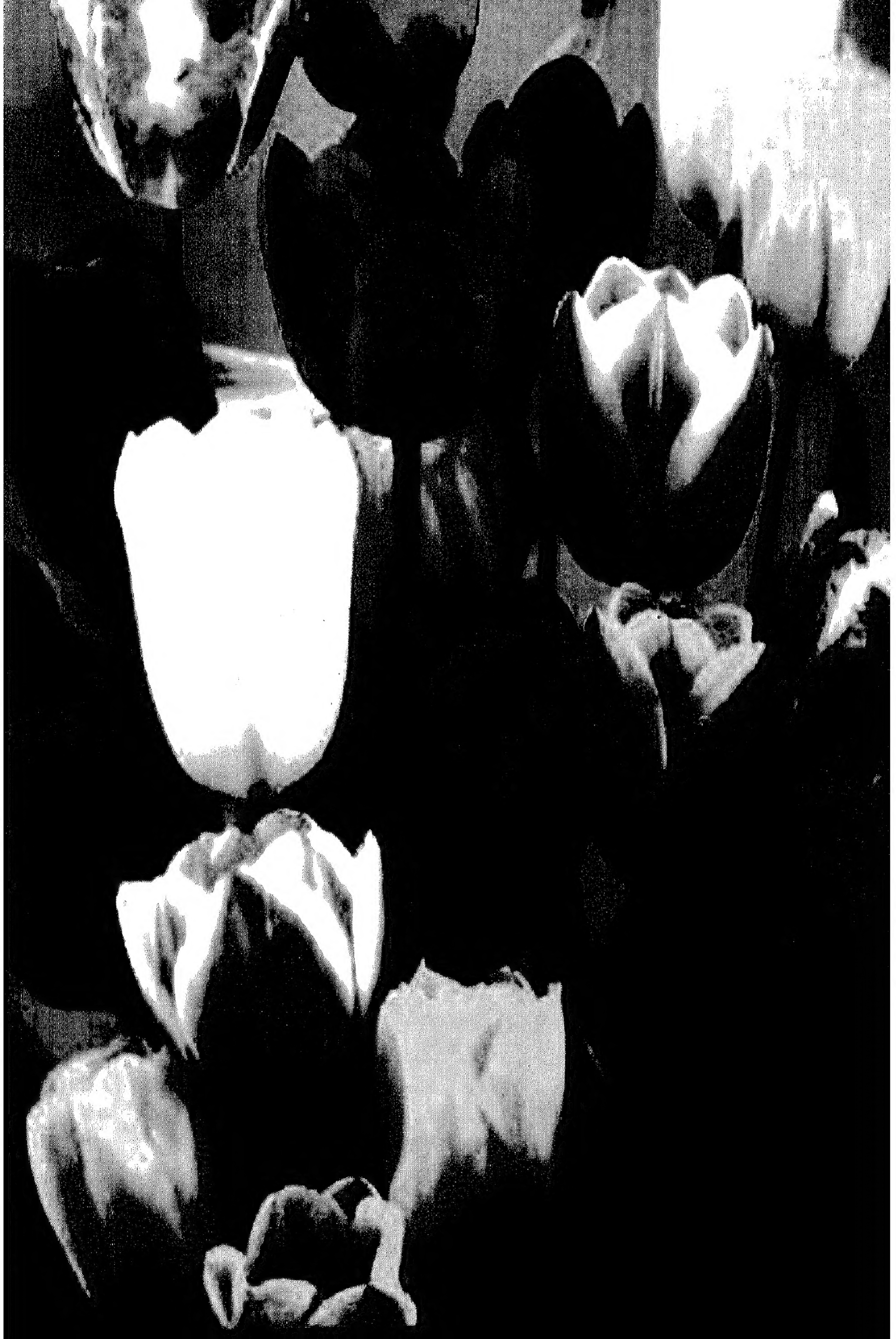
لما قدموه لي من عون صادق

أحفاذي

زياد عمرو - زينة عمرو

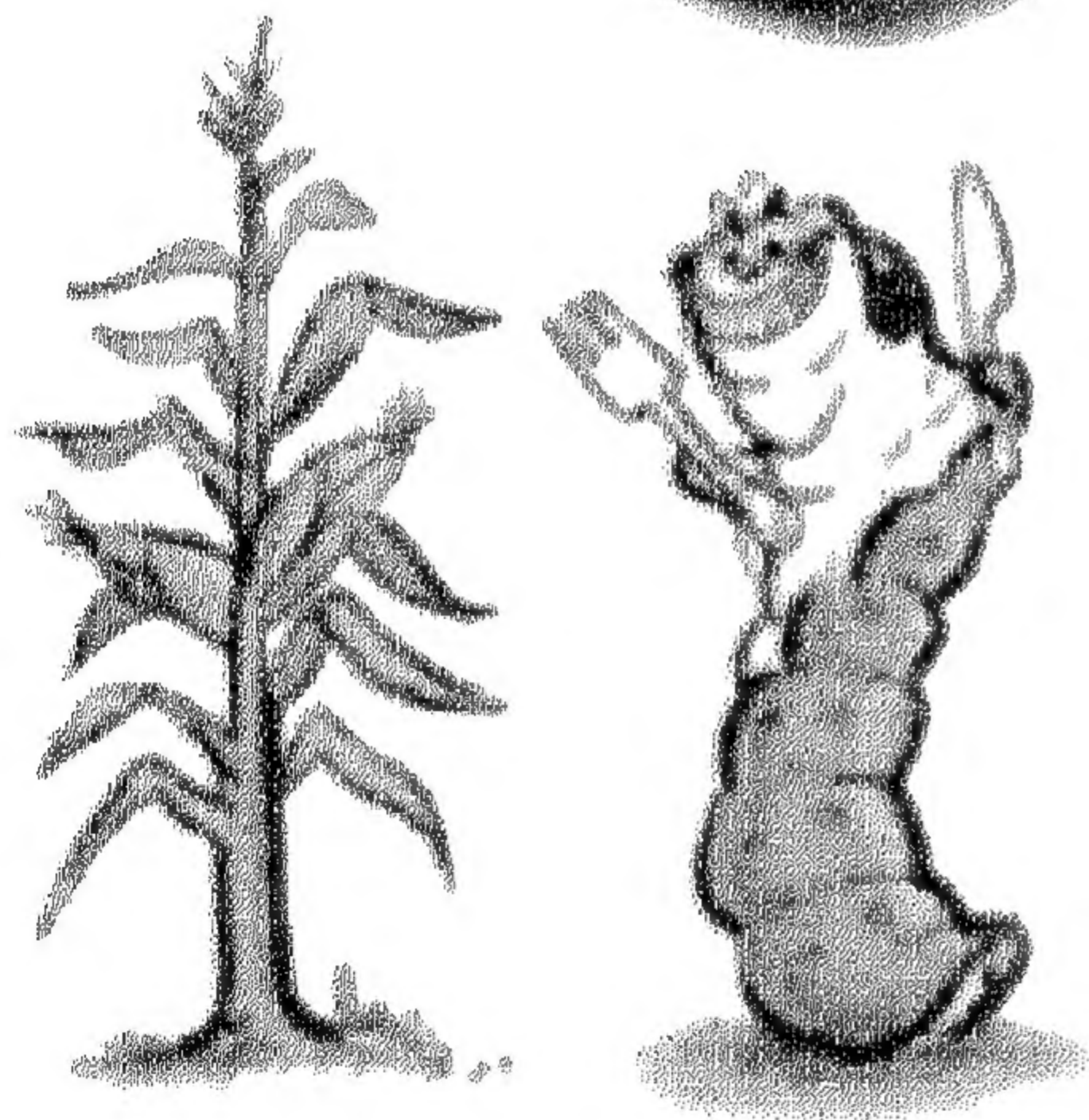
سلمى أيمن - سليم أيمن

جهانة خالد - مريم خالد

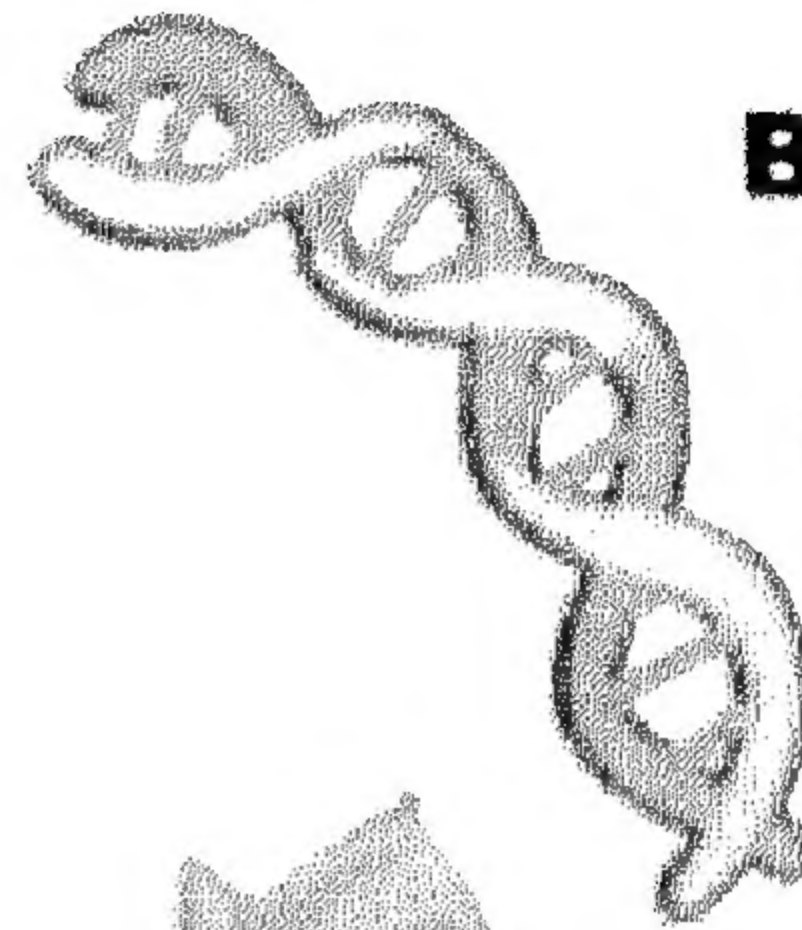




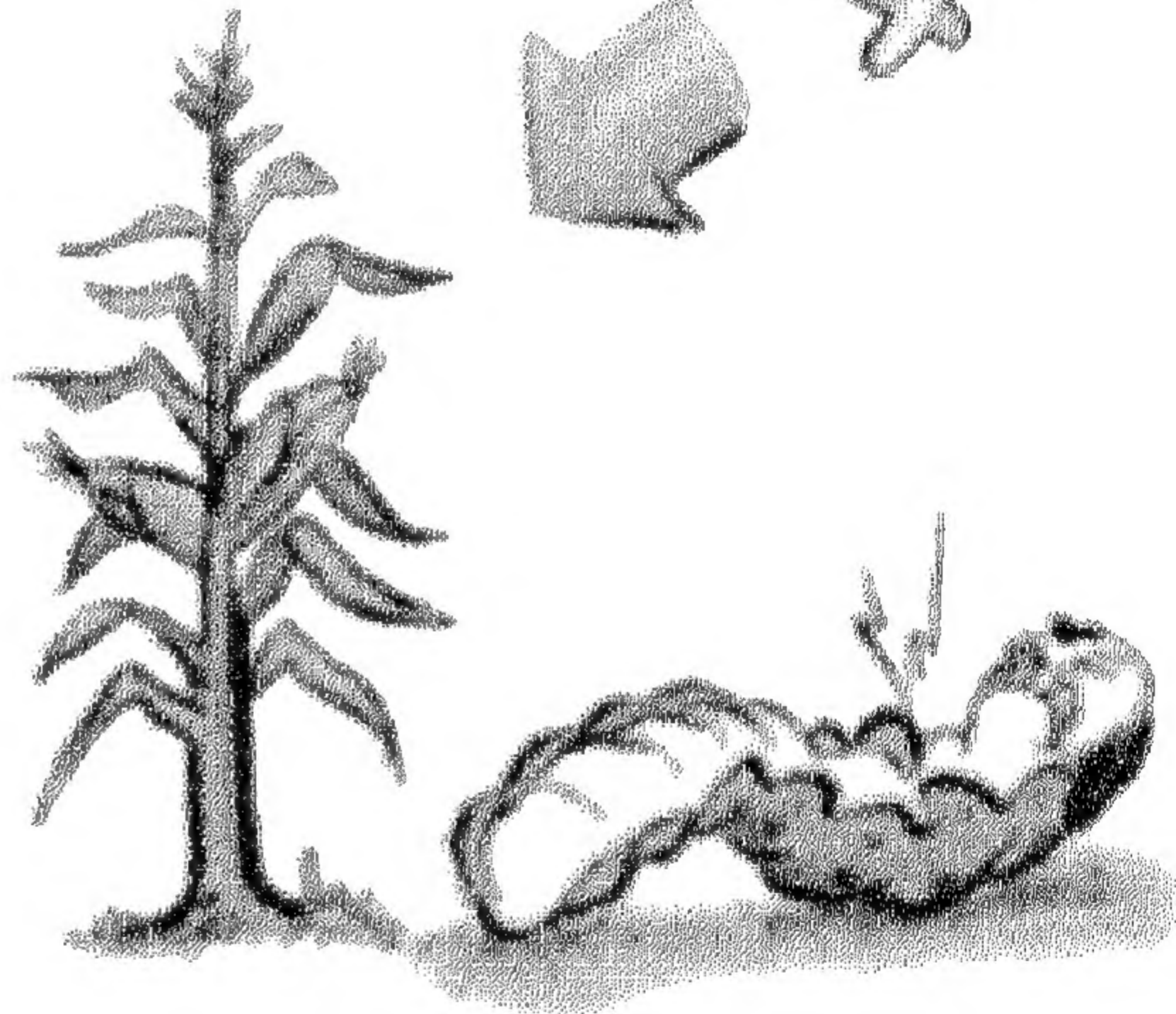
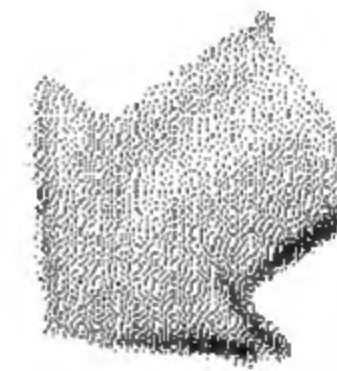
**bacillus
thuringiensis**



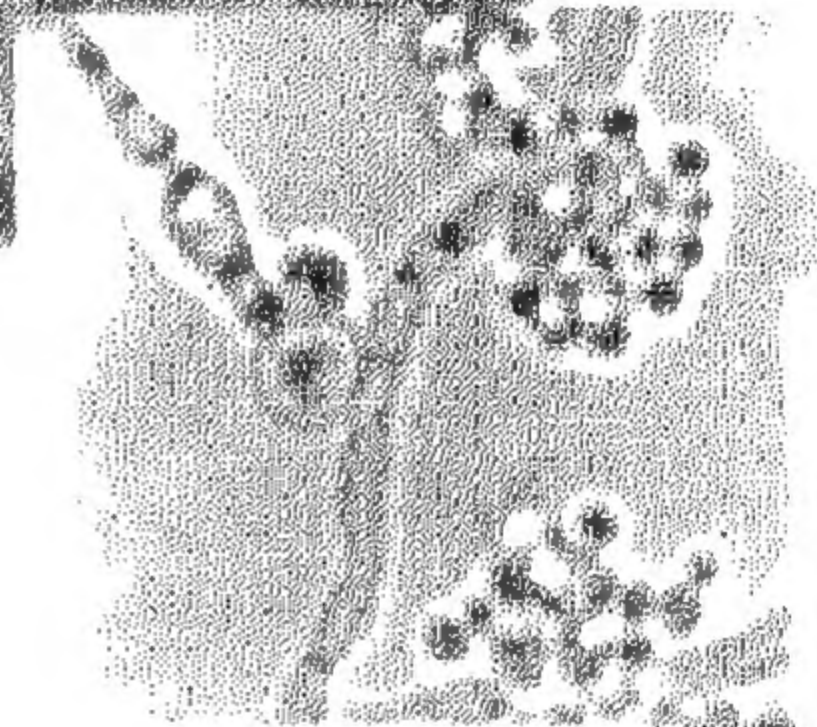
**Crop is infected by
European corn borer**



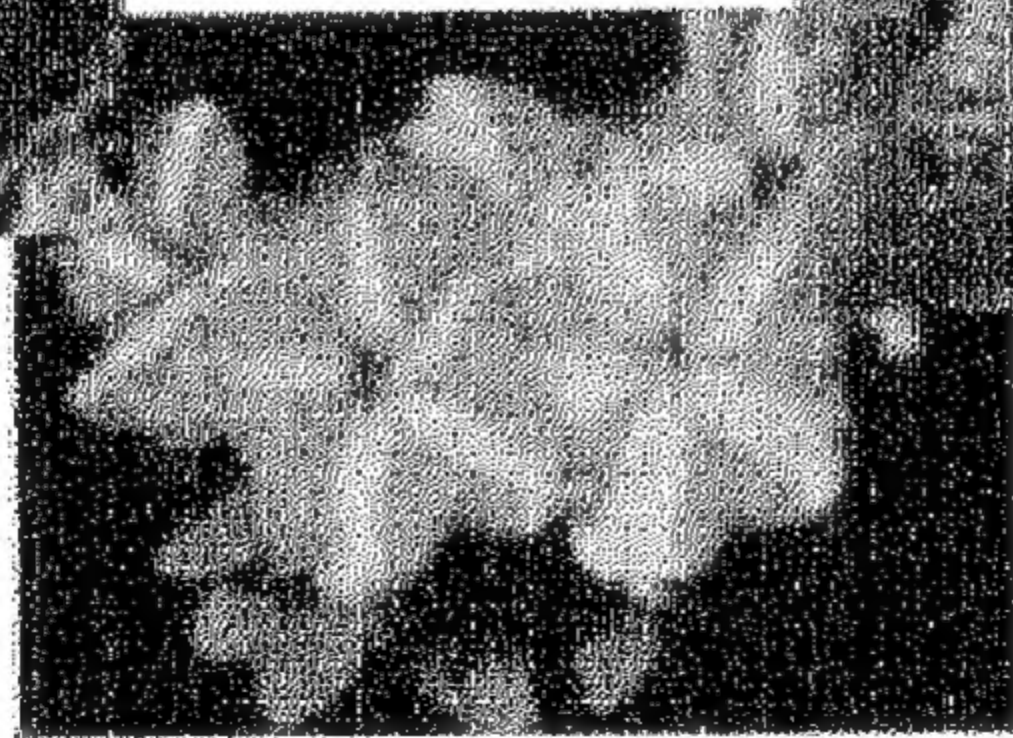
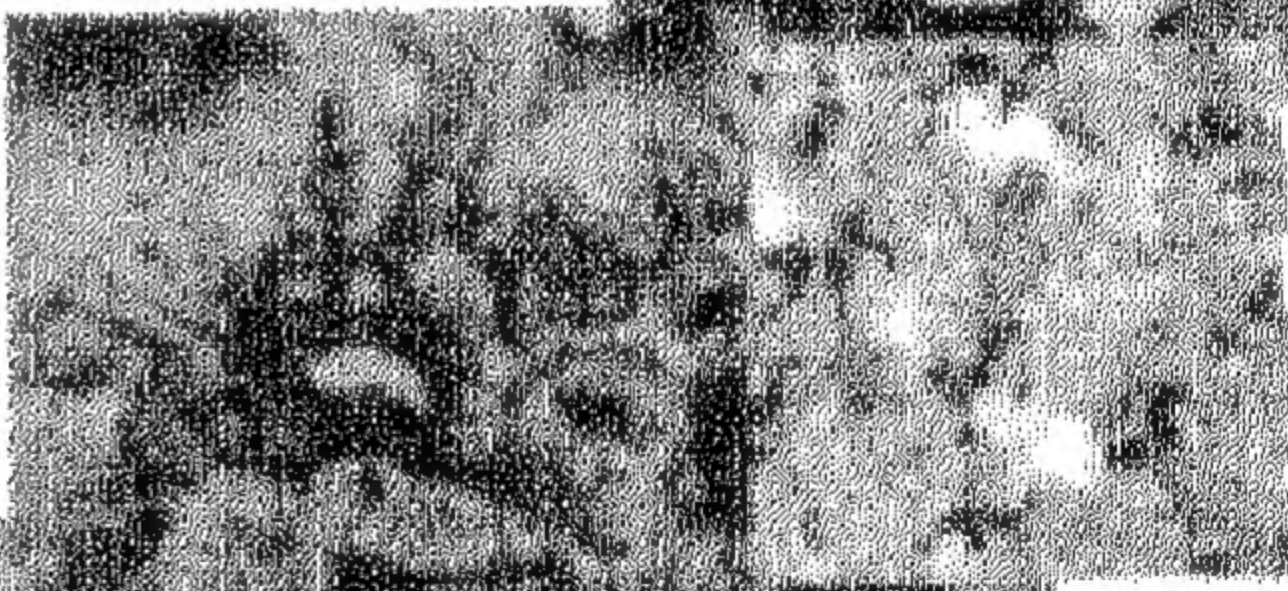
**Bt Gene is
inserted
into crop**

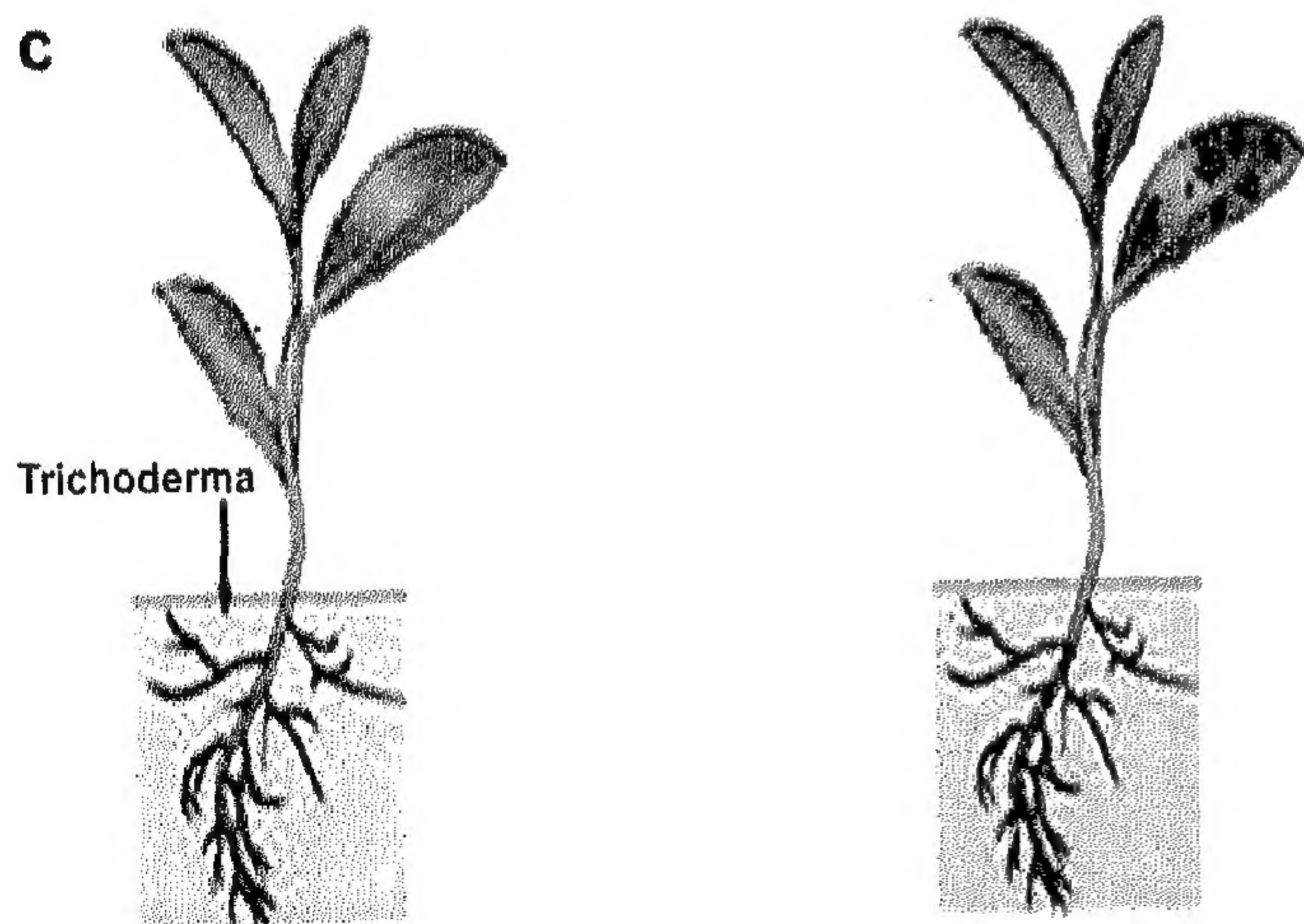
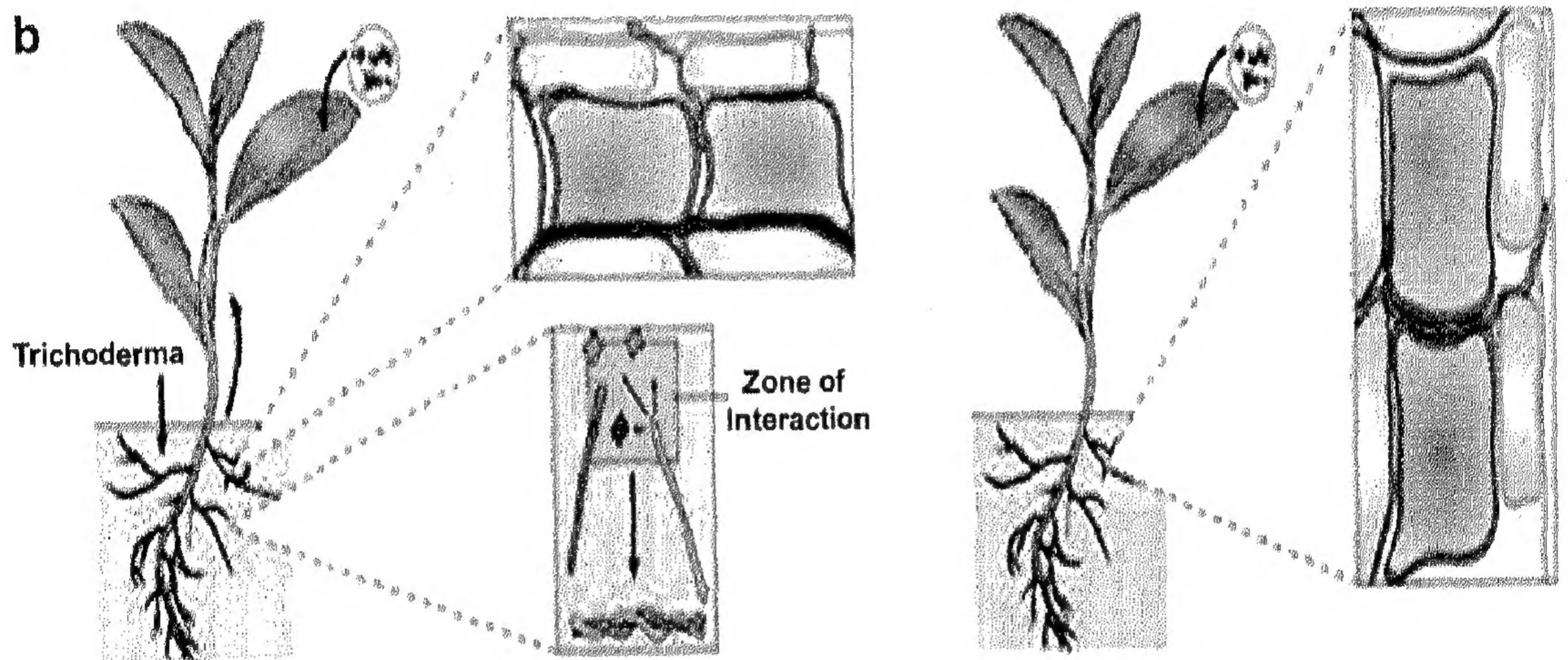
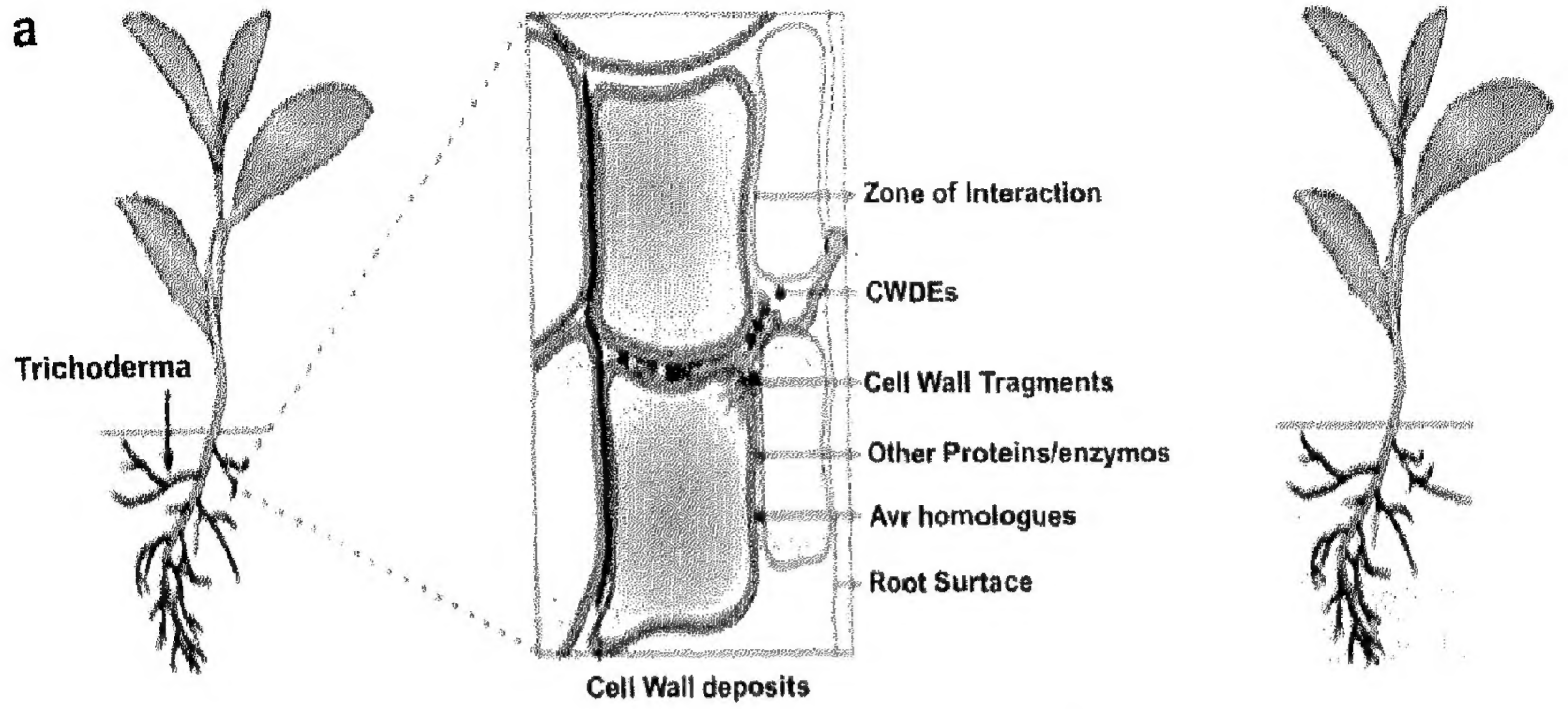


**Pest dies when feeding on
any plant part**



PeroxiBase





المحتويات

الصفحة	الموضوع
١	تقديم الكتاب
٣	الباب الأول : دور المقاومات الثلاثة : (المكتسبة - المستحثة - الحيوية في أمراض النبات)
٣	مقدمة
٦	أولاً : المقاومة المحفزة في النبات
١٠	ثانياً : المقاومة الجهازية المكتسبة
١١	ميكانيكيات المقاومة الجهازية المكتسبة
١١	١. اللجننة والحوافز التركيبية الأخرى
١٢	٢. البروتينات المتعلقة بالمرضية
١٢	٣. التكيف
١٤	ثالثاً : المواد الحاثية على تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة
٣٤	رابعاً : المقاومة الجهازية المستحثة
٣٦	خامساً : المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة الرايزوبكتريا (تنبيه - تأشير - تعبير)
٣٦	١. التنبيه
٣٨	٢. التأشير أو إصدار الإشارات
٣٩	٣. التعبير
٤٧	الباب الثاني : المفاهيم الأساسية لدفاع النباتات ضد آكلات العشب الحشرية
٤٧	أولاً : الدفاعات المباشرة في النباتات وتحفيزها بواسطة الجروح وآكلات العشب الحشرية
٤٨	١. مقدمة
٤٩	٢. عوامل المقاومة المحفزة للدفاع المباشر
٥٦	٣. التأثير الجهازى للدفاع المباشر المحفز

٦٥	٤. المنظورية
٦٩	ثانياً : الدفاع غير المباشر المحفز ضد آكلات العشب : من ميكانيكات التحفيز حتى إيكولوجي الجماعة
٦٩	١. مقدمة
٧٣	٢. تحفيز الدفاع غير المباشر في النباتات
٧٨	٣. استجابات أفراد الجماعة للدفاع غير المباشر المحفز في النباتات
٨٤	٤. الدفاع غير المباشر في العالم المعقد والمتغير
٨٧	٥. مناورة الدفاع النباتي غير المباشر
٩١	٦. من المعمل للحقل
٩٢	٧. المنظورية
٩٧	الباب الثالث : الدفاعات المحفزة في النباتات ونموذج العلاقة بين التكلفة والفائدة
٩٨	١. مقدمة
١٠٠	٢. دليل التكاليف الخاصة بالدفاع
١٠٦	٣. تأثير الارتباط
١١٤	٤. الاستنتاجات
١١٦	٥. المنظورية
١١٩	الباب الرابع : الدفاعات المحفزة المباشرة التشريرية
١١٩	أولاً : تكوين الزوائد الشعرية على الأوراق ومقاومة النباتات لآكلات العشب
١٢٠	١. مقدمة
١٢٤	٢. تكوين ترايكوما الورقة
١٢٦	٣. الإنتاج المحفز للترايكوم
١٢٧	٤. ترايكومات الأوراق ومقاومة النبات
١٣٢	٥. المنظورية

١٣٦	ثانياً : المقاومة لآكلات العشب عند كيو تيكل النبات
١٣٦	١. مقدمة
١٣٨	٢. خصائص الكيو تيكل
١٤١	٣. المقاومة التركيبية
١٤٥	٤. المقاومة المحفزة
١٤٨	٥. حماية المحصول
١٥٥	الباب الخامس : تكوين الأدمة من الجروح وقنيات الراتنج الجرحى وخلايا البرانشيمه عديدة الفينولات في الصنوبريات
١٥٥	أولاً : تكوين الأدمة من جراء حدوث الجروح
١٥٥	١. مقدمة
١٥٦	٢. أدمة البطاطس : الأصل والتشريح
١٥٩	٣. التركيب الكيميائي للأدمة
١٦٢	٤. خواص الحماية لأدمة الجروح
١٦٣	٥. إقامة أو تشييد حاجز الأدمة
١٦٩	ثانياً : قنيات الراتنج الجرحى والخلايا البرانشيمية عديدة الفينولات في الصنوبريات
١٧٠	١. مقدمة
١٧٢	٢. خلايا البرانشيمه عديدة الفينولات PP
١٨٠	٣. قنوات الراتنج الجرحى
١٩١	الباب السادس : إنتاج نواتج التمثيل الثانوية "التربينويدز والفينيل بروبانويد" للدفاع ضد الحشرات والجروح في أشجار الصنوبر
١٩١	أولاً : دفاعات التربينويدز المحفزة في أشجار الصنوبر
١٩٢	١. مقدمة
١٩٤	٢. كيمياء التخليق الحيوي للتربينويدز في دفاعات الصنوبريات

- ١٩٧ ٣. نشوء عائلات جين إنزيمات TPS , P450 لدفاع
التربينويدز
- ١٩٨ ٤. التخليق الحيوي وتراكم دفاعات التربينويدز تتطلب خلايا
خاصة
- ١٩٩ ٥. البيولوجيا الجزيئية لدفاعات التربينويدز ضد الحشرة
والمثيل جسمونات في الصنوبريات
- ٢٠٠ ٦. تأثيرات تربينويدز الصنوبريات على الحشرات ومسببات
الأمراض النباتية المرتبطة بالحشرات
- ٢٠٥ ثانياً : تمثيل الفينيل بروبانويدز المحفز بالجروح والحشرات آكلة
النباتات
- ٢٠٦ ١. مقدمة
- ٢٠٦ ٢. مركبات الفينول والتداخلات بين النبات واكل العشب
- ٢٢٧ ثالثاً : الدفاع بواسطة الكالويدز بيروليزيدين : الذي يتكون بواسطة
النباتات ويطوع بواسطة الحشرات
- ٢٢٨ ١. مقدمة
- ٢٢٨ ٢. الكالويدز بيروليزيدين النباتية
- ٢٣٧ ٣. استخدام الكالويدز البيروليزيدين المشتقة من النباتات
بواسطة الحشرات
- ٢٤٧ الباب السابع : دور الإنزيمات مضادات التغذية والبروتينات وإنزيمات
المعدة في تحقيق الدفاع ضد الآفات التي تهاجم النباتات
- ٢٤٧ أولاً : مثبطات إنزيم البروتينيز النباتي : النشوء الوظيفي للدفاع
- ٢٤٧ ١. مقدمة
- ٢٤٩ ٢. ترتيب عائلات الجينات مع تنوع الأدوار
- ٢٥٤ ٣. العلاقة بين التركيب والفاعلية
- ٢٥٨ ٤. الحشرات تناضل أو تقاوم رجعياً
- ٢٦٢ ٥. المنظورية
- ٢٦٦ ثانياً : الأدوار الدفاعية لإنزيم فينول اكسيديز في النباتات

٢٦٧	١. مقدمة
٢٦٧	٢. الكيمياء الحيوية للبولي فينول اكسيديز النباتي
٢٦٩	٣. إنزيمات PPO والدفاع المحفز لآكلات النباتات في الطماطم والنباتات الأخرى
٢٧٤	٤. بعض الوظائف الدفاعية لإنزيم PPO كما ظهرت في نباتات الطماطم والحدود المهندسة وراثياً
٢٧٥	٥. نشاط PPO ضد الحشرات : ميكانيكيات الفعل والمحدودية
٢٧٩	٦. إنزيم PPO والدفاع ضد الممرض النباتي
٢٨٠	٧. الاستنتاجات واتجاهات المستقبل
٢٨٤	ثالثاً : فعل إنزيمات الدفاع النباتية في المعى الأوسط في الحشرة
٢٨٤	١. مقدمة
٢٨٦	٢. الأرجينيز
٢٨٨	٣. ثريونين دي أمينيز
٢٩٥	٤. بروتينات التخزين الخضرية
٢٩٩	الباب الثامن : اللكتينات والمواد العطرية المتطايرة في دفاع النبات ضد الآفات
٢٩٩	أولاً : اللكتينات النباتية جزء من نظام دفاع النبات ضد الحشرات
٢٩٩	١. مقدمة
٣٠٠	٢. توزيع لكتينات النبات
٣٠١	٣. اللكتينات النباتية التقليدية والمحفزة
٣٠٦	٤. النشاط الإبادي للكتينات النباتية ضد الحشرات
٣١١	٥. آكلات النبات الحشرية التي تحفز تعبير بعض اللكتينات في النباتات
٣١٢	٦. كيفية إحداث الفعل
٣١٩	ثانياً : المواد العطرية المتطايرة ودورها في دفاع النبات
٣١٩	١. مقدمة

٣٢٠	٢. التخليق الحيوية للمركبات العطرية المتطايرة
٣٢٠	٢-١- الخطوة الأولى في التخليق الحيوي
٣٢٥	٢-٢- المواد العطرية المتطايرة المشتقة من الكوريسمات
٣٢٥	٣. المواد العطرية المتطايرة ودفاع النبات
٣٢٦	٣-١- المواد المتطايرة العطرية في الدفاع المباشر للنبات
٣٣٠	٣-٢- المواد المتطايرة في دفاع النبات غير المباشر
٣٣٧	٤. المواد المتطايرة والتداخلات نبات - نبات
٣٣٨	٥. اتجاهات المستقبل
٣٤٣	الباب التاسع : تنشيط الدفاعات النباتية من خلال إشارات سستيمينات والبيتيدات والبروتين كينيزيس والجسمونات المخلقة حيويًا
٣٤٣	أولاً : السستيمينات و Atp بيتيدات : الدفاع المرتبط بإشارات البيتيد
٣٤٣	١. مقدمة
٣٤٥	٢. سستيمين الطماطم (Sys)
٣٤٦	٢-١- جين السستيمين الأولى والبروتين
٣٤٧	٢-٢- تجهيز Pro Sys
٣٥٠	٢-٣- مسار تأثير Sys
٣٥١	٢-٤- السستيمين وإشارة الجرح الجهازية
٣٥٢	٣. جليكوبيبتيدات السستيمين الغنية بالهيدروكسي بروتين
٣٥٤	٤. البيتيدات المرتبطة بالدفاع في الارابيدوسيس
٣٥٦	٥. اعتبارات النشوء
٣٥٨	الرؤى والمنظورية
٣٦٠	ثانياً : إنزيمات الكينيزيس بروتين المنشط بالميتوجين في الاستجابة لآكلي النباتات
٣٦٠	١. مقدمة
٣٦٢	٢. MAP كينيزيس في استجابات النباتات لآكلي الأوراق

٣٦٢	٢-١- شلالات أو سلاسل المیتوجین المنشطة للبروتين کینیز
٣٦٣	٢-٢- MAPK المحفزة بالإجهاد (SIPK) وبالجروح (WIPK)
٣٦٦	٢-٣. Le MPK3 , Le MPK2 , Le MPK1
٣٧١	٤. دور MPK4 في الاستجابة للجروح
٣٧٢	الرؤى والمنظور
٣٧٨	ثالثا : التخليق الحيوي للجسمونات والإشارات لتحفيز دفاع النبات ضد آكلات النباتات
٣٧٨	١. مقدمة
٣٨٠	٢. التخليق الحيوي للجسمونات
٣٨٦	٣. تأثير الجسمونات في التحفيز الجهازى للدفاعات ضد آكلي النباتات
٣٨٩	٤. الرؤى والمنظور
٣٩٥	الباب العاشر : دور الإفرازات الحشرية وإشارات الأحماض الدهنية والتربينات والمواد المتطايرة في تحفيز مقاومة النباتات ضد هجوم الآفات
٣٩٥	أولا : إفرازات الحشرات (الديدان) والاستجابات المحفزة في النباتات
٣٩٥	١. مقدمة
٣٩٦	٢. الإفرازات الفمية واللعب ٠٠٠٠ توضيح
٣٩٨	٣. الاقتربات التجريبية لدراسة الإفرازات الفمية واللعب
٤٠٠	٤. الإفرازات الفمية والدفاعات المحفزة
٤٠١	٥. اللعب والدفاعات المحفزة
٤٠٣	٦. الطبيعة الديناميكية أو الحركية للإفرازات
٤٠٤	٧. اللعب والإفرازات الفمية يجب أن تفحص في تزامن
٤٠٦	٨. اللعب والإفرازات الفمية والمدى العوائلى
٤٠٨	٩. اتجاهات المستقبل والرؤى والمنظورية

٤١٤	ثانياً : الإشارات المشتقة من الحامض الدهني التي تحفز أو تنظم دفاعات النباتات ضد آكلي الأوراق
٤١٥	١. مقدمة
٤١٦	٢. محفزات دفاع النباتات التي تنتج بواسطة آكلات العشب الحشرية
٤١٦	٢-١- مقتربات الحمض الدهني - الحمض الأميني
٤٢١	٢-٢- محفزات الكاليفيرينات من نطاطات الأوراق
٤٢٣	٣. المواد المتطايرة في الأوراق الخضراء
٤٢٤	٣-١- GLVs ودفاع النبات
٤٢٦	٣-٢- التحضيرية
٤٢٨	٤. مسار تأشير أوكتاديكانويد
٤٣٠	٥. اتجاهات المستقبل
٤٣٤	ثالثاً : الأدوار الايكولوجية لمركبات التربين المتطايرة من الأجزاء الخضرية
٤٣٤	١. مقدمة
٤٣٥	٢. التربينات كإشارات نباتية متطايرة
٤٣٥	٢-١- التداخلات ثلاثية التغذية للنباتات مع آكلات الأوراق والأعداء الطبيعية لها
٤٣٩	٢-٢- تداخل التربينات المتطايرة النباتية مع فورمونات الحشرات
٤٤٠	٢-٣- التداخلات التي تعال بالتربين بين النباتات
٤٤١	٣. المنظورية والرؤى
٤٤٣	الباب الحادي عشر : دراسات مصرية عن إمكانية استخدام المواد الفعالة النباتية كأحد وسائل مكافحة المتكاملة للآفات : تحفيز المقاومة النباتية
٤٤٣	أولاً : إمكانية استخدام المواد الفعالة النباتية كأحد وسائل مكافحة الحيوية
٤٤٦	ثانياً : تأثير معاملات سمادية وحيوية على مكافحة مرض البياض

الدقيقي في بعض محاصيل الخضر

- ٤٤٩ ثالثاً : إحداث المقاومة في نباتات القمح ضد مرض صدأ الأوراق
المتسبب عن فطر *Puccinia triticina*
- ٤٥٠ أ- تعريف السلالات الفسيولوجية أو الطرز المرضية
- ٤٥٠ ب- التوزيع الجغرافي للسلالات الفسيولوجية لفطر *Puccinia triticina* في بعض المحافظات المصرية
- ٤٥١ ٢. الحث على المقاومة .
- ٤٥٥ رابعاً : السمات الجزيئية لآليات المقاومة المستحثة لمرض الذبول
الفيوزاريومي في البطيخ
- ٤٥٧ خامساً : مكافحة بعض أمراض المجموع الخضري الفطرية في الفول
البلدي باستخدام معاملات حيوية وغير حيوية
- ٤٦١ سادساً : الاتجاهات الحديثة لمكافحة بعض فطريات التربة الممرضة
على الفلفل في الأراضي المستصلحة
- ٤٦٤ سابعاً : المقاومة المستحثة لمرض الذبول في البطيخ المتسبب عن
الفطر فيوزاريوم أكسيسبورم نيفيوم
- ٤٧٠ ثامناً : دراسات على آليات المقاومة المستحثة لمرض الذبول
الفيوزاريومي من البطيخ
- ٤٧٦٢ تاسعاً : الحث على المقاومة ضد بعض الأمراض التي تصيب نباتات
الخيار المنزرعة تحت ظروف الصوب
- ٤٧٦ عاشراً : دراسة فاعلية المستخلصات الطبيعية والبيولوجية في تنشيط
ظاهرة المقاومة الجهازية المكتسبة في العوائل النباتية ضمن
إطار مكافحة المتكاملة للآفات
- ٤٨٥ حادي عشر : المقاومة المستحثة ضد أمراض محصول الفول البلدي
- ٤٩٢ ثاني عشر : دراسات على المقاومة المستحثة للبياض الدقيقي في
الخيار تحت ظروف الصوبة والزراعات المحمية
- ٥٠٠ ثالث عشر : المقاومة المستحثة لمقاومة مرض عفن جذور الفراولة
وتأثيراتها الجانبية على الأنشطة الحيوية في التربة
- ٥١١ رابع عشر : دراسات على بعض النباتات الطبية كمصدر للمضادات
الفطرية في شمال أفريقيا

خامس عشر : دراسات على النشاط التثبيطي للنباتات المختلفة ضد
بعض مسببات المرضية ٥١٣

سادس عشر : دراسات على ظاهرة المقاومة المكتسبة للمبيدات
الفطرية في بعض الفطريات المسببة لأعفان جذور
الفاصوليا ٥١٥

سابع عشر : دراسة تطور المقاومة المكتسبة للمبيدات الفطرية في
فطر بيروكيولاريا أوريزي المسبب لمرض اللفحة في
الأرز وعلاقتها بالعوامل البيئية ٥٢٠

ثامن عشر : دراسات على المقاومة المستحثة ضد صدا الساق الأسود
في القمح ٥٢٤

الكتب والمقالات والمشروعات البحثية التي استعنت بها في إعداد هذا
الكتاب

المصطلحات ٥٢٩

تقديم ومقدمة الكتاب

بعد أن انتهيت من كتابي عن " غش المبيدات " وصل الإحباط واليأس في النفس والوجدان لأقصى درجة ممكنة من جراء الوقوف على ما يسود هذه التجارة من لا أخلاقيات وتدليس وعدم الشرعية والجرائم المتعمدة . لقد تأكد انتشار ظاهرة الغش في كل مكونات هذه السلعة الاستراتيجية الهامة والضرورية والتي لا يمكن الاستغناء عنها لمكافحة الآفات التي تضر بالإنتاج الزراعي وتضر بصحة الإنسان في مصر وفي جميع دول العالم المتقدم والنامي . للأسف الشديد فإن مصادر المبيدات المغشوشة غير المطابقة للمواصفات القياسية العالمية والمحلية معروفة للجميع خاصة الصين ومع هذا فإن ما فيا الاتجار غير المشروع لهذه السلعة لا يعدمون الوسيلة في التحايل على جميع القوانين والتشريعات التي تحكم انتقال هذه البضاعة المعيوبية من مصادرها إلى الدول الأخرى عبر الجمارك في أماكن الوصول البحرية والجوية والبرية . ناهيك عن الغش المحلي للمبيدات المستوردة عن طريق تخفيف المحتوى من المادة الفعالة أو تغييرها كلياً بمادة أخرى أرخص وعديمة الفاعلية وقد لا تكون مبيد بالمرة أو تعبئة عبوات مزورة البطاقات الاستدلالية والمحتويات.

للأسف الشديد فإن المجابهة والتعدي لهذه الجريمة اللا أخلاقية معروفة للجميع ومع هذا فإن نجاحها مهما كانت الوسائل محدود للغاية بدليل زيادة التهريب والغش والتدليس . إلى الجانب الآخر فإن القرارات الرسمية غير المدروسة بعناية قد تتسبب في زيادة حجم الغش والتدليس كما حدث في مصر عندما أصدر وزير الزراعة قرار بإيقاف استخدام ما يزيد عن ١٥٠ مبيد مرة واحدة دون أن يكون لديه دراسة عن انعكاس وتبعات هذا القرار على سوق تجارة المبيدات في مصر بل وكان متفائلاً أكثر من اللازم عندما أعلن أن كل من يقوم بتسليم ما لديه من هذه المبيدات إلى وزارة الزراعة سوف يسترد قيمتها ... قلت لمعاليه أنت تحلم وسلوكيات تجار المبيدات بعيدة تماماً عما في ذهنك ومعاونيك .. أضفت أن السوق سوف يدمر من جراء الغش والتدليس وقد حدث ما توقعته ونبهت إليه : لقد قام كل تاجر عنده كمية من المبيد الممنوع بحجبه وغشه فأصبح الطن عشرة أطنان مغشوشة وارتفع سعره في الأسواق السوداء عشرة أضعاف وحقق الغشاشون مكاسب خرافية ولا يمكن عودتهم للصواب ...

لذلك قررت أن أتناول موضوعاً بعيد كل البعد عن المبيدات ألا وهو تعظيم وتحفيز مقاومة النباتات لفعل الأمراض النباتية لخطورتها والأضرار الضخمة التي تسببها للإنتاج الزراعي . لقد شجعتني على ذلك اشتراكي في لجنة التحكيم الخاصة بتحفيز المقاومة

النباتية ضد مسببات الأمراض والحشرات في محصول البطاطس من خلال مشروع ممول من أكاديمية البحث العلمي لمجموعة العمل بكلية الزراعة جامعة عين شمس . كذلك كان لي شرف مناقشة رسالة دكتوراة على نفس الموضوع للدكتور أحمد خميس من كلية الزراعة جامعة الإسكندرية . بالإضافة إلى ذلك وجدت في المكتبة كتاب بعنوان :

" Induced resistance to diseases in Plants "

المنشور بواسطة :

" Raymond Hammerschmitt and Pospel Kull "

والناشر هو :

" Kluwer Academic publishers , P.O. Box 17 , 3300 AA Dordrecht 1.
The Netherlands " .

وأرجو من الله سبحانه وتعالى أن يوفقني لما فيه الخير والمنفعة لزملائي وتلاميذتي في مجال وقاية النبات.

أ.د. زيدان هادي عبد الحميد

الباب الأول

دور المقاومات الثلاثة :

المكتسبة - المستحثة - الحيوية فى أمراض النبات

مقدمة

عندما بدأت الكتابة فى هذا الموضوع الهام ألهمنى أحد الأساتذة الأصدقاء العظام المشهود له بالكفاءة فى كلية الزراعة جامعة عين شمس بقسم أمراض النبات الأخ الصديق أ.د. أحمد موسى بالاستعانة بأمهات الكتب عن تحفيز المقاومة النباتية ضد الآفات الضارة بل وأعطانى إياها على قرص مدمج كما نصحنى بالاستعانة بكتاب " المضادات الحيوية والمقاومات الثلاثة (مكتسبة - مستحثة - حيوية) ودورها فى أمراض النبات " للأستاذ الكبير أ.د. محمود موسى أبو عرقوب والصادر عن المكتبة الأكاديمية - القاهرة ٢٠٠٢ . كما شجعنى على تناول هذا الموضوع ثلاثة مشاركات فعالة : الأولى تحمل مسئولية أحد المشروعات البحثية الكبيرة بين كلية الزراعة جامعة عين شمس وجامعة ميرلاند كوليج بارك بأمريكا بعنوان " المناورة بالكيميائيات الدفاعية فى بعض المحاصيل الحقلية لتحفيز المقاومة ضد الآفات الحشرية " فى الفترة من ١٩٩٩ وحتى ١٩٩٩ . المشاركة الثانية جاءت من خلال اختياري عضو خارجي لتحكيم رسالة الدكتوراه للزميل / د. أحمد خميس على نفس الموضوع بكلية الزراعة جامعة الإسكندرية . المشاركة الثالثة شاركتى فى مناقشة المشروع البحثي الممول من أكاديمية البحث العلمى والتكنولوجيا - مصر عن تحفيز مقاومة نباتات البطاطس ضد الأمراض والحشرات التى تصيب محصول البطاطس . عندما تجمعت لدى المادة العلمية وزيادة قناعتي عن أهمية هذا الموضوع الذى يستهدف تقليل الاعتماد على المكافحة الكيميائية بالمبيدات للسيطرة على الآفات والأمراض توكلت على الله العزيز الخالق المصور فى البدء بالكتابة عن الموضوع رغم قصور معلوماتي فى هذا السبيل بسبب الإحباط الشديد الذى شعرت به ومازلت من عدم المضي فى المشروع المصرى الأمريكى (المناورة النباتية ضد الأمراض والحشرات) بعدما تحصلنا على حزمة الأليلوكيميائيات المسئولة عن تحفيز نباتات فول الصويا وفول المانج والذرة والقمح. لقد تعمد الفريق الأمريكى بمساندة ومباركة من متسق عام المشروع فى مصر من حرماننا من المضي قدماً فى دراسات الهندسة الوراثية والبيولوجيا الجزيئية لتعريف الجينات المسئولة عن تعظيم هذه الأليلوكيميائيات وحث النباتات على إنتاجها بوفرة وبكميات بما يحفز ويعظم المقاومة النباتية ... لقد أصبح هذه العمل الضخم الذى أجرى

فى تعاون وتناسق كبيرين بن كلية الزراعة جامعة عين شمس ومعهد بحوث وقاية النباتات وجامعة ميرلاند كوليغ بارك فى طي النسيان ...

عندما تفاقمت المشاكل الصحية والبيئية من جراء الاندفاع نحو مكافحة الكيميائية باستخدام المبيدات الفعالة كما حدث من تعظيم استخدام الددت فى الحرب العالمية الثانية لمكافحة خنفساء الكلورادو التى دمرت محصول البطاطس فى ذلك الوقت وكذلك مكافحة البعوض الناقل لطفيل الملاريا من معسكرات جيوش الحلفاء فى الحرب ومكافحة البراغيث الموجودة على القتران البرية التى تنقل مسبب مرض الطاعون وكذلك مكافحة القمل الذى ينقل مسبب مرض التيفوس وجميعاً أمراض وبائية أدت إلى وفاة مئات الآلاف من البشر بل الملايين ... لقد قيل يوماً أن الددت هو المبيد المعجزة الذى خلص العالم من العديد من الآفات الناقلة لمسببات الأمراض الخطيرة بكتيرية أو فيروسية كما أنه أنقذ إنتاج العديد من الحاصلات الزراعية وساهم فى سد الفجوة الغذائية فى العديد من دول العالم ... بعد الإسراف فى الاعتماد على المبيدات فى مكافحة الآفات الزراعية وتلك التى لها علاقة بالصحة العامة ظهرت العديد من المشاكل أولها ظهور وتطور مقاومة الآفات لفعل المبيدات والعديد من المشاكل الصحية والبيئية والتلوث ...

أدى ظهور المشاكل الخطيرة بسبب الإفراط فى استخدام المبيدات فى مكافحة الآفات الزراعية الحشرية والأمراض النباتية وتلك التى لها علاقة بالصحة العامة إلى مناداة العديد من الجماعات والهيئات فى جميع أنحاء العالم بالتقليل من استخدام المبيدات وعدم اللجوء إليها إلا عند الضرورة القصوى وتعظيم برامج الإدارة المحصولية المتكاملة لمكافحة والسيطرة على الآفات الزراعية وبرامج الإدارة المتكاملة للآفات المرتبطة بصحة الإنسان والحيوان . لقد نجحت دول كثيرة فى هذا السبيل ونخص بالذكر السويد التى نجحت فى تقليل كميات المبيدات المستخدمة فيها إلى الربع (٧٥%) فقط مع تحقيق مكافحة ناجحة للآفات وبدون أن يتأثر الإنتاج المحصولى كما ونوعاً عن طريق الترشيد وتعظيم برامج الإدارة المتكاملة للمحصول / الآفة / المبيد . منذ ذلك الوقت اجتهد كثير من باحث وعلماء ومسؤولى وقاية النباتات فى البحث عن سبل ووسائل وخطط واستراتيجيات وتكتيكات لخفض أو عدم استخدام المبيدات التقليدية السامة شديدة الخطورة على الصحة العامة والبيئة. برز من بين وسائل الإدارة المحصولية المتكاملة اقتراب ضرورة اختيار الأصناف النباتية المقاومة لفعل الآفات ودارت عجلة البحث العلمى الأكاديمى والتطبيقاتى بمشاركة العديد من العلوم والمعرفة بغرض الحصول على أصناف نباتية مقاومة للآفات . لقد شارك علماء الإنتاج النباتى وفسولوجيا النبات والكيمياء الحيوية والهندسة الوراثية والميكروبيولوجى وأمراض النبات ووقاية النبات وغيرهم فى هذا الاتجاه وتحقق نجاحات كبيرة لا يمكن إنكارها فى بعض المحاصيل الحقلية مثل القمح والذرة وكذلك العديد من الخضراوات خاصة الطماطم والفلفل وغيرها ومازال العمل مستمراً لأن هذا هو السبيل لتقليل فقد المحصول بالآفات وسد الفجوة الغذائية عن طريق تحقيق إنتاج وفير كما

ونوعاً من خلال الهندسة الوراثية والبيولوجيا الجزيئية وعلى الله العظيم العلى القدير قصد السبيل . للأسف الشديد نحن نقف فى مصر موقف المتفرجين برغم بعض الأبحاث المتناثرة هنا وهناك ...

لقد ذكر أ.د. محمود موسى أبو عرقوب فى مقدمة كتابه وجود أربعة طرق تعظم مقاومة النباتات ضد مسببات الأمراض النباتية وهى : المقاومة الجهازية المكتسبة ، المقاومة الجهازية المستحثة ، المقاومة الحيوية ، المضادات الحيوية . لقد أضاف سيادته أن هذه الطرق لها استخدامات عملية تطبيقية فى تحقيق المقاومة النباتية للآفات والأمراض النباتية وبعضها حقق نجاحات كبيرة على المستوى التجارى والعمل مازال مستمراً على قدم وساق . المقاوم المستحثة فى النباتات تظهر بعد الحقن أو المعاملة المسبقة للنباتات بأى من العوامل الطبيعية أو الكيميائية أو الحيوية . لقد تم استحثاث المقاومة فى العديد من الأصناف النباتية ضد الفطريات والبكتريا والحشرات . إن حقن النبات بعوامل الاستحثاث يدفع النبات دفعاً لتحفيز عوامل المقاومة بالعمل للتغلب على المسبب المرضى . هناك ما يعرف بالمقاومة المستحثة الموضعية التى تحدث بعد بضعة أيام فى المنطقة المحيطة بأمكان الإصابة الأولية ويمكن أن تتكشف فى الأجزاء غير المحقونة أما إذا تكشفت فى أوراق بعيدة عن المحقونة يطلق عليها " مقاومة جهازية مستحثة " . ظهور المقاومة المستحثة يحتاج وقت من الحقنة الأولى (الحث) وحقنة الاختبار حتى تتكون أو تخلق المادة أو المواد الكيميائية الحيوية المسئولة عن المقاومة . لذلك فإن المقاومة المستحثة العضوية تتكشف فى الأوراق المحقونة بعد ٢ - ٣ أيام من الحقن بينما المقاومة المستحثة الجهازية تتكشف بعد ٧ أيام من الحقن الأولى . لقد تأكد أن المقاومة المستحثة فى النباتات ترجع إلى تكوين بعض البروتينات الجديدة فى أنسجة النبات العائل وقد سميت بالبروتينات المتعلقة بالمرضية...

هناك جدل كبير بين اصطلاحى المقاومة الجهازية المستحثة والمقاومة الجهازية المكتسبة فالبعض يعتبرهما استحثاث والبعض يعتبرهما قسمان دون أن يحددوا الفرق الجوهرى بينهما . المقاومة الجهازية المكتسبة تظهر بعد حقن النبات بكائن حى يحدث نكزة فى الأوراق وتعتمد فى الكشف على حامض السلسيليك وتكوين بروتينات خاصة هى البروتينات المرضية أما المقاومة الجهازية المستحثة تعتمد فى كشفها على بعض أنواع الرايزوبكتريا المعزولة فى التربة وتظهر فى نباتات ذات الفلقتان أو عديدة الفلقات . المقاومة الحيوية تعنى استخدام الكائن الحى العادي أو المهندس وراثياً لتقليل تأثير الآفات شريطة أن تكون متوافقة مع الكائنات الدقيقة النافعة ولا تضر بالمحصول المستهدف . أحدث الاقترابات فى هذا الاتجاه إحداث تغييرات فى جينات بعض سلالات الكائنات الحية الدقيقة بحيث تقاوم أو تضاد السلالات الممرضة أو تثبط أو تمنع تكاثرها وهذا هو عمل الهندسة الوراثية من خلال تغيير تركيب الأحماض النووية " الدنا والرنا " . اقتراب المضادات الحيوية يعنى استعمال منتجات ميكروبية لمقاومة ميكروبات أخرى . والكثير

منها يوجد على نطاق تجارى فى مقاومة الفطريات الممرضة للنباتات وتتميز برخص التكلفة وهى شائعة الاستخدام فى أمريكا ضد مرض اللفحة النارية فى التفاح والكمثرى ومعظم أمراض الأرز ولفحة الفلفل .

أولاً : المقاومة المحفزة فى النبات Inducing résistance

١- تحصين النبات Plant immunization

منذ أواخر القرن التاسع عشر ظهرت فكرة أن النبات عنده القدرة على تكشف شكل من أشكال المناعة المكتسبة للإصابة بعد تعرضه للإصابة من كائن ممرض أو مواد مضادة جينياً من كائن ممرض . بعد تجارب مضنية تأكد أن زيادة مقاومة النبات للممرض تكون موضعية فى أماكن الحقن أو العدوى ولا تكون جهازية كما فى الحيوان . الأساس الميكانيكى لهذه الظاهرة يرجع إلى أن أنسجة النبات الممرضة لظروف الإجهاد الطبيعى أو لمسببات مرضية يتجمع فيها مركبات ذات وزن جزيئى منخفض ومضادة للميكروبات تسمى " فيتو الكسينات Phytoalexins " وهذا إحدى العناصر وليست كل منظومة المقاومة المحثة .

السؤال الآن : ما هو دليل تكشف مقاومة جهازية فى النباتات ضد الكائنات الممرضة ؟ لقد تأكد من خلال تجارب أجريت على نباتات الدخان والفطر المسبب لمرض البياض الزغبى بيرنسبورا تاباكينا الذى يهاجم الأوراق ويسبب مرض العفن الأزرق . لقد أدى حقن الفطر إلى حدوث مقاومة ضد المرض فى الأوراق الواقعة فوق منطقة الحقن بالمسبب الممرض . لقد كانت المقاومة النباتية فى حدود أكثر من ٩٠% عن المقارنة وكانت أفضل من المعاملة بالمبيد التقليدى الموصى به " ميتالاكسيل " وقد حدث تكشف المقاومة بعد ٣ أسابيع من الحقن . هذه المقاومة الجهازية تكتشف بعد ٣ أسابيع من الحقن المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic acquired resistance تختصر (SAR) . طريقة التكاثر تلعب دوراً كبيراً فى تحقيق هذه المقاومة فالتكاثر الخضرى لا يحقق هذه المقاومة على عكس ما يحدث مع التكاثر بالأنسجة . لقد أدى حقن نبات الدخان الحساس لبعض الفطريات البيضية فيثوفثورا وبيرنوسبورا الحساسة لفيروس TMV إلى حدوث مقاومة لهذه الفطريات وحشرات المن . لقد حدثت مقاومة مكتسبة فى نبات الخيار للعديد من مسببات المرضية مثل محدثات البياض الدقيقى والزغبى وفطريات الذبول الوعائى والانثراكنوز ...

تحدث المقاومة الجهازية المكتسبة وتتميز بعدة خصائص : تحدث تحت تأثير بعض العوامل الممرضة المسببة للبقع الموضعية ، تحتاج حضانة عدة أيام من بدء عملية الحث ، تحقق وقاية للأنسجة التى لم تتعرض للحث ، تظهر على صورة خفض البقع وحجم وإنتاج جراثيم الممرض ، تدوم لعدة أسابيع ، الوقاية ليست متخصصة ، تنتقل إشارات

المقاومة بواسطة التطعيم ، لا تنتقل إلى البذور . توجد في أكثر من ٢٠ نبات تتبع عائلات نباتية منخفضة . عن ميكانيكية حدوث ظاهرة المقاومة الجهازية المكتسبة SAR وجد أن المعاملة بالحاء الأولى يولد إشارات في الأنسجة المعرضة تنتقل إلى الأجزاء البعيدة من النبات حيث تكون الخلايا معدة للمقاومة عند الحقن بالكائن الثانى عن طريق مجموعة من الجينات تنسخ بروتينات متعلقة بالدفاع . الجدول (١-١) يوضح التطور التاريخى لاكتشاف وأبحاث ظاهرة المقاومة الجهازية المكتسبة SAR .

جدول (١-١) : تسلسل تاريخى لاكتشاف وبحوث SAR (مأخوذة من كتاب المضادات الحيوية والمقاومة الحيوية والمقاومات الثلاثة أ.د. محمود موسى أبو عرقوب)

السنة	الاكتشاف
١٩٣٣	دراسة حول إمكانية وجود مناعة جهازية في النبات .
١٩٥٩	ملاحظات حقلية على وجود بعض أنواع المقاومة المكتسبة في الدخان .
١٩٦٠	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة في الدخان ضد مرض العفن الأزرق .
١٩٦١	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة في الدخان لفيروس موازاك الدخان .
١٩٧٥	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة في العائلة القرعية لبعض الأمراض الفيروسية .
١٩٨٢	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة في الشعير ضد الأمراض الفطرية .
١٩٨٩	اكتشاف المقاومة الجهازية ضد بعض الحشرات .
١٩٩٢	اكتشاف المقاومة الجهازية في نبات Arabidopsis .
١٩٩٤	اكتشاف الدور الرئيسى والمركزي لحمض السلسليك في المقاومة الجهازية المكتسبة .
١٩٩٥	اكتشاف أول حاث يستعمل تجاريا للحصول على المقاومة الجهازية المكتسبة .
١٩٩٦	اكتشاف أن المقاومة الجهازية المستحثة تحدث بدون الحث على تكوين بروتينات متعلقة بالمرضية .
١٩٩٧	أثبت Press et al دور الكائنات PGPR في إحداث مقاومة جهازية مستحثة .
١٩٩٨	إدخال بعض المستخلصات النباتية كمادة حافظة على المقاومة الجهازية المكتسبة .
١٩٩٩	أثبت العالم Chen أن دور حمض السلسليك يكون فقط في المقاومة الجهازية المكتسبة وليس المستحثة .
٢٠٠٠	أثبت كل من Beer , Dong أن الرايبوفلافين يشجع تكون ممر إشارى جديد إلى المقاومة .

لقد كثفت العديد من الشركات العالمية الكبرى في مجال صناعة الكيمياء الزراعية أنشطتها نحو الحصول على مركبات تحقق مقاومة داخلية في النباتات ضد غزو العديد من مسببات المرضية الهامة وكذلك الحشرات . لقد أمكن تحقيق نجاحات في هذا الشأن كما هو الحال مع مادة بروبينازول ومادة بنزوثيا (يازولات) ومنها مادة GOA 245704 Bion المستخدمة عالمياً على نطاق تجارى لإحداث المقاومة النباتية . هذه المواد تفيد مع حالات ظهور مقاومة أو عدم فاعلية المبيدات الفطرية ضد بعض مسببات المرضية للنباتات . هناك أسئلة كثيرة مثارة حول هذه المواد الكيميائية الحائكة للمقاومة النباتية مثل : طرق وتوقيت الاستعمال المناسب والتوافق مع المبيدات الأخرى ومدى تداخلها مع العمليات الفسيولوجية في النباتات .

لقد تباينت آراء الباحثين الذين شاركوا في المؤتمر العالمي الأول عن المقاومة التي تحدث في النباتات عقد في أواخر عام ٢٠٠٠ حول المقاومة الجهازية المكتسبة SAR (Systemic acquired resistance) والمقاومة الجهازية المستحثة (Induced systemic resistance) ISR على الجانب الآخر فإن اصطلاح إحداث المناعة Immunization يدل على المناعة الدفاعية في الحيوان وقد اتفق على أن عملية التحصين بالفاكسينات بعيدة تماماً عن نوعى المقاومة النباتية هذه . المقاومة المستحثة في النباتات نادرة ما تمنع حدوث المرض ولكنها تخفض نشاطه وانتشاره على النبات . أول مادة أحدثت أو نبهت المقاومة المحدثة في النباتات هي Aribenzolao - s - methyl ويرمز لها (BTH) وتباع تجارياً في شركة نوفارتس وتباع في أمريكا وأوروبا تحت الاسم التجارى " بيون " . كلمة جهازية Systemic في المصطلحين SAR , ISR تعنى أن هذه المقاومة ليست محددة في أجزاء النبات التي عوملت بالحاثات ولكنها تمتد إلى الأجزاء الأخرى غير المعاملة خاصة النموات الحديثة من النبات . لقد اتفق على أن المقاومة الموضعية تختلف عن نوعى المقاومة SAR , ISR أيا كان الاصطلاح فإن الجميع على فهم وقناعة كاملة بأن المقصود هو استحثاث المقاومة الدفاعية في النباتات بسبب إثارتها بواسطة كائنات ممرضة ضعيفة وهذا ما يقوم العلماء بغرس هذا العامل سواء كان طبيعياً أو كيميائياً أو حيوياً في النباتات حتى تتحفز وتنتج أسباب المقاومة ضد الآفة ويا ليت الوقت يأتى يبشر بنجاح تحقيق مقاومة نباتية ضد معقد الآفات ...؟

لقد سبق الإشارة إلى المقاومة المكتسبة الموضعية Localized acquired resistance (LAR) خاصة مع الممرضات البكتيرية وفيرس موزايك الدخان وهى تختلف عن المقاومة الجهازية ولقد تأكد أن حمض السلسليك (SA) يلعب دوراً هاماً فى تأسيس SAR , LAR ولا يلعب الأكسجين النشط دوراً فى هذا الخصوص كما تنشط

بواسطة البكتريا الحية والميتة وكذلك السكريات العديدة الدهنية (LPS) المقاومة الموضعية المستحثة بالبكتريا تحدث في طورين زمنيين الأول يحدث مبكراً حيث يحتاج ٦ - ٢٠ ساعة ويثبط بمواد تثبيط بناء البروتين والطور الثاني يحدث متأخراً حيث يحتاج ٢٤ ساعة كي يتكشف . فيما بعد سوف نتناول ما يحدث للنباتات بعد الاستحثاث ؟

المقاومة المستحثة في النباتات تحدث بالعديد من العوامل الحيوية (فطر - بكتريا - حشرات ... الخ) والمثيرات الكيميائية (Bion) وكذلك الظروف البيئية (البرد الشديد والتقسية الشتوية) تحدث على المقاومة لأعفان الثلج بسبب حدوث مستويات عالية من نسخ إنزيمات الكيتينيز والبيروكسيديز وظهور بروتينات المقاومة للمرضية والعديد من الإنزيمات الدفاعية . أدت معاملة القمح والشعير بالحمض غير الأميني بيتا - أمينو بيوتيريك أسيد (BABA) إلى حث المقاومة ضد النيماتودا الحويصلية . الاستحثاث بواسطة المركب Bion أكثر وضوحاً في نباتات أحادية الفلقة وهي تنشط المقاومة ضد الأمراض الفطرية مثل تجعد أوراق الطماطم وكذلك ضد حشرات الذبابة البيضاء . هناك مادة Oxycom TM تلعب دوراً في توليد الأكسجين وتوجد تجارياً وتحدث الجينات المسؤولة عن الدفاع من خلال حل شفرة البروتينات الداخلة في تمثيل الفينولات وتقسية جدار الخلايا النباتية . هناك مادة مخلقة DF - 391 من مشتقات البيريدين تحدث على المقاومة الجهازية المكتسبة في الخيار ضد مرض الانثراكوز .

الحاثات الأولية للمقاومة النباتية (كائن ممرض على الأوراق أو الحقن بالريزوبكتريا أو التجريح) تلعب أدواراً مختلفة في نقل الإشارات الحاثية للمقاومة عبر الممرات وتكوين الحافز . هذه الممرات تعتمد على المواد المنظمة الداخلية مثل حمض السلسليك والاثيلين وحمض الجسمك للحث على تفاعلات دفاعية . كمثال يوجد عابر إشاري للضوء ينبه ويحث تكوين البروتين المتعلق بالمرضية بواسطة حامض السلسليك مؤدياً إلى دفاعات ظلام ضد إضاءة . لقد ثبت أن التداخل بين هذه الممرات يؤدي إلى المقاومة المكتسبة . يمكن حث المقاومة من خلال ممرات إشارية مختلفة بواسطة الحشرات والكائنات الممرضة . لقد وجد أن معاملة نباتات القطن بمادة BTH تؤدي إلى زيادة في كل من البروتينات المتعلقة بالمرضية الموضعية والجهازية ولكنها لم تؤثر على الذبابة البيضاء وديدان اللوز . إنزيمات تحطيم جدار الخلية والتي تفرز بواسطة الممرض المسبب لمرض العفن الطري البكتيري تنبه ممر غير معتمد على حامض السلسليك في نبات أرابيدوبسيس وهذا يعتمد على التأثيرات التعاونية للاثيلين وحمض الجسمونيك . مازال هناك قصور في فهم طبيعة الإشارات المنتقلة جهازياً .

عن كيفية ظهور المقاومة النباتية يتساءل الكثيرون عن : كيف تستطيع النباتات أن توقف تكشف الكائن الممرض في أنسجتها ؟ لقد تأكد أن العديد من العوائل النباتية تستجيب للمقاومة المستحثة وأن جميع العمليات التي تحدث في النباتات تكون تحت التحكم الوراثي

ومعنى ذلك أنها تشمل جميع أشكال المقاومة . لقد وجد أن المقاومة الممولة وراثياً فى بعض الأنظمة (نبات - ممرض) ترتبط مع الإنزيمات مثل الكيتينيز فى إحداث المقاومة الجهازية المكتسبة ونفس الشيء مع إنزيمات هيدروليزيس . لقد وجد أن المقاومة الجهازية المكتسبة فى الشعير ضد فيروس التقزم الأصفر فى الشعير لها علاقة بالتحول الوراثة وهذه كانت مترافقة مع موقع مفرد هو 1 - ISR فى النبات العائل . عملية الحث على المقاومة الجهازية المكتسبة فى فول الصويا تشمل الإثارة الكافية لتجمعات جلايسبولين من خلال ممر أكسدة والحث على تجمع الأيزوفلافون عن طريق مستقبلات نووية . فى الأرز تحث مادة BTH على إنتاج إنزيمات ليبواكسجينيز ولم يوضح دورة فى المقاومة المكتسبة حتى عام ٢٠٠١ . يلعب حمض الابسيسيك (ABA) دوراً كبيراً فى مقاومة الكائنات الممرضة فى نباتات الطماطم التى تفتقر لهذا الحامض وقد اكتسبت مقاومة جهازية ضد فطريات بوترياتيس وسكليروتينيا والترناريا . وقد كان BTH فعالاً فى الحث على المقاومة ضد البوتراتيس سينيريا فى الأنواع البرية للنبات . بالإضافة إلى بروتينات المناعة فإن بناء الفيتوالكسينات وتقسية جدار الخلية هى استجابات دفاعية والتى تستحث خلال التفاعلات غير المتوافقة أو المعاملة بالمهيجات . هذه الاستجابات تتدخل فى زيادة نشاط إنزيمات الأكسدة بالإضافة إلى بناء التربينويدز و / أو مواد بادئات عطرية .

ثانياً : المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic acquired resistance

لقد سبق القول أن المقاومة الجهازية المكتسبة ما هو إلا نظام مستحث للمقاومة النباتية يتم تنبيهه بواسطة كائنات ممرضة تحدث بقع موضعية . هذا يعنى أنه بعد إصابة النبات بالمرض تستحث عوامل المقاومة فى داخله بعد فترة حضانة حوالى سبعة أيام مما يحقق وقاية للأنسجة غير المعرضة للكائن الممرض حيث تقل عدد البقع ويقل حجم وإنتاج الجراثيم وتكاثر الممرض وتستمر الوقاية لعدة أسابيع أو شهور . لقد سبق الإشارة إلى هذه الوقاية أو المقاومة المستحثة ليست متخصصة وهناك إشارات وقنوات المقاومة تترجم وتنقل بالتطعيم ولا تنتقل عبر البذور إلى الأجيال القادمة .

سبحان الخالق العظيم حيث أفاض على الكائنات الحية بما فيها النبات مقاومة طبيعية ضد الكائنات الممرضة متفردة أو مجتمعة يشار إليها بالمقاومة التكوينية Constitutive وعلاوة على ذلك يستطيع النبات تنشيط موانع أو نظم أخرى للمقاومة ضد إصابته الموضعية بالمسبب الممرض وهذا ما اتفق على تسميته بالمقاومة المستحثة Induced والتى اتفق بعد ذلك على تسميتها بالمقاومة المكتسبة Acquired . بعض النباتات المقاومة للأمراض توقف وتحصر انتشار الكائن الممرض فى مساحة صغيرة حول الموضع الأولى للإصابة وتظهر بقع نكروز موضعية حيث تموت الخلايا فى هذه المنطقة كنوع من الانتحار فى المنطقة الموضعية لحماية الأجزاء الأخرى من الأوراق أو النبات .

على غرار ما حدث مع المناعة أو المقاومة المكتسبة في الإنسان ضد مسببات الأمراض الوبائية حيث المعاملة بالفاكسينات وهي نفس الممرضات في تجهيزات ضعيفة عندما يأخذها الإنسان تحفز جهاز المناعة للتغلب عليها ثم تستمر المناعة لسنوات طويلة ثم اتباع نفس الأسلوب حيث تحقق النباتات بالكائنات الممرضة الضعيفة Attenuate تؤدي إلى الوقاية ضد الإصابات التالية من قبل الكائنات الممرضة نفسها أو ذات القرابة بها . لقد سبق القول بأن المقاومة المكتسبة في النبات تشمل نوعين الأول الموضعية (Local) LAR والجهازية Systemic (SAR) . المقاومة الجهازية المكتسبة ترجع إلى قيام النبات المستحث ببناء مجموعات متميزة من البروتينات ذات تأثير سيروولوجي متميز ذات وزن جزيئي منخفض تسمى البروتينات ذات العلاقة بالمرضية Pathogenesis related proteins (PR's) بعضها معروف الوظائف والأخرى غير معروفة مثلاً بروتينات PR - 2 تحتوي نشاط B - 1,3 - gluconase وبروتينات PR - 3 هي مجموعة من Chitinases . هناك نظرية المقاومة جين لجين Gene - fur حيث أن النبات قد يكون مقاوم أو قابل للإصابة ضد سلالات معينة من الكائن الممرض بينما SAR فيها نسبة عالية من المقاومة ضد مدى واسع من الكائنات الحية الدقيقة .

ميكانيكات المقاومة الجهازية المكتسبة :-

١ - اللجنة والحوافز التركيبية الأخرى :-

اللجنة ظاهرة تمنع الإصابة بالكائنات الدقيقة الممرضة مثل الفطريات والبكتيريا والفيروسات والنيماطودا . اللجنة ليست قاصرة على التفاعل غير المتوافق بين الكائن الممرض والنبات كما في نظام جين لجين آخر حيث لوحظت في العائل غير المقاوم وكذلك حالة المقاومة الجهازية المكتسبة SAR . يتكون اللجنين عن طريق بادئات البلمرة العشوائية لفقد الايدروجين الناتجة من ممر الفينيل بروبانويد . الخطوة الأولى في هذا الممر تتمثل في إزالة مجموعة الأمين للفينيل الانين وإنتاج حامض السيناميك بواسطة إنزيم فينيل الانين أمونيايز (PAL) . هناك إنزيمات أخرى داخلية في ممر الفينيل بروبانويد التي تستحث تفاعلات المقاومة الجهازية المكتسبة وهي إنزيم سيناميل الكحول ديهيدروجينيز ، ٤ - كوماترات : مرافق إنزيم ليجييز ، بيروكسيديز . لقد وضعت تفسيرات عن دور اللجنة في المقاومة

- دمج اللجنين في جدار الخلية يقويه ميكانيكياً ويجعله أكثر مقاومة للتحطيم بواسطة الإنزيمات التي تفرزها الكائنات الممرضة .

- صعوبة تحطيم تركيبات اتحاد اللجنين مع جدار خلية النبات .

- تشكيل حاجز مانع للحركة الحرة للمغذيات .
 - يمكن لبواديء اللجنين أن تمارس تأثيراً ساماً على الكائن الممرض .
 - ترتبط بواديء اللجنين مع جدر الخلية الفطرية مما يجعلها أكثرها قساوة وغير منفذة مما يعوق نمو وامتصاص الماء والتغذية للممرض .
 - تظهر اللجننة كاستجابة لتفاعل فرط الحساسية .
 - تكوين تركيبات إضافية (حليمات) .
- بعد الإصابة يمكن أن يحدث تقوية لجدار الخلية بواسطة إنزيم البيروكسيديز المحفز بوصلات قاطعة من جلايكوبروتينات جدار الخلية الغنية بالهيدروكسي برولين .

٢- البروتينات المتعلقة بالمرضية (PR's)

لقد أظهرت الدراسات الأولية أن معظم البروتينات المتعلقة بالمرضية تتجمع في الفراغات خارج الخلية أو في الفجوات الخلوية وتوجد هذه البروتينات في المواقع المرضية لكثير من النباتات . تجمع هذه البروتينات بعد مهاجمة الكائن الممرض يكون له دور كبير في حدوث المقاومة الجهازية المكتسبة . الكائنات الممرضة تشمل الكائنات الدقيقة والنيماطودا والحشرات وآكلات الأعشاب . لقد ذكر العالم Van loon عام ١٩٩٤ أن هناك أربعة عشر مجموعة من هذه البروتينات الدفاعية كما في الجدول (١-٢) . تم تعريف تسعة عائلات بروتينات في الطماطم وأحدى عشر عائلة من البروتينات المتعلقة بالمرضية في نباتات الدخان وكلاهما تم تعريفهما على أساس مستوى الحمض النووي الرسول m RNA البروتينات المتعلقة بالمرضية تتجمع في مواقع الإصابة بالآفات أو العوامل الأخرى وبعضها يتجمع في الأجزاء غير المصابة ولكن بدرجة أقل . الجينات المرتبطة بهذه المجموعات من البروتينات تسمى جينات المقاومة الجهازية المكتسبة SAR genes . تختلف طبيعة ومستوى تعبير بروتينات SAR باختلاف أنواع النبات . يمكن تحديد دور البروتينات المرتبطة بالمرضية باستعمال النباتات المتحولة وراثياً ومظهرة الجينات ذات العلاقة .

٣- التكيف Conditioning

عندما تعامل أو تصاب النباتات بكائن حي ممرض مسبب للكرزة أو مادة صناعية حادة على المقاومة الجهازية المكتسبة فإن الأوراق التي تظهر فيها المقاومة سرعان ما تتفاعل ضد الإصابة بالمرض في عملية تسمى التكيف أو إكساب الحساسية Sensitizing وتكون مصحوبة بحدوث تغيرات بيوكيميائية في النبات مكتسب الحساسية . لقد وجد تجمع للفينولات مع عملية اللجننة حول منطقة محاولة أنبوب الإنبات الفطرية

للاختراق . حدث زيادة في إنتاج الكومارنيات بعد المعاملة بفطر فيثوفثورا ميجاسبيروما كما يكون للنباتات المقاومة قدرة حقيقية على دمج مشتقات الفيناييل بروبانويد في جدار الخلية . وجد أن الحقن المسبق للمزارع الخلوية لنباتات البقدونس بمادة ميثل جاسمونات تحدث وتحفز المقاومة النباتية ضد الفطريات . كذلك وجد أن حك الكيوتيكل في فلقات الخيار الشاحبة بالمغذيات الحائثة على حدوث المقاومة الجهازية المكتسبة SAR تزيد من كفاءة الخلايا المحصنة في إزالة الماء الأكسجيني . في المقاومة النباتية المرتبطة بالظهور السريع لحلمات الكالوس بعد التحصين بالفطر ترجع إلى زيادة النشاط للغشاء المتخصص المرتبط بالكالسيوم Ca^{++} مع إنزيم بيتا - ٣,١ - جلوكان - سينسيز في النسيج المتكيف .

جدول (١-٢) : البروتينات المتعلقة بالمرضية في النباتات من حيث نوع النبات والجين

Families Type member	Properties	Gene symbol	Reference
PR-1 Tobacco PR- 1a	Antifungal	Ypr 1	Antoniw et al ., 1980
PR-2 Tobacco PR- 2	B -1.3 glucanase	Ypr 2 [Gns2 (GLB)	Antoniw et al ., 1980
PR-3 Tobacco P. Q	Chitinase type 1.11	Ypr 3 , Chia	Van Loon , 1982
PR- 4 Tobacco " R "	IV , V , VI , VII	Ypr 4 , Chid	Van Loon , 1982
PR- 5 Tobacco S	Chitinase type 1.11 thaunatin-like	Ypr 5	Van Loon , 1982
PR -6 Tomato Inhibitor 1	Proteinase – inhibitor	Ypr6 . pis (pin)	Green an Ryan, 1972
PR – 7 Tomato P ₆₉	Endoproteinase	Ypr 7	Vera and Conejero , 1988
PR – 8 Cucmber chitinase	Chitinase type III	Ypr 8. Chib	Metraux et al. 1988
PR – 9 Tobacco ilignin – foming peroxidase	Peroxidase	Ypr 9 . Prx	Lagrimini et al. 1987
PR – 10 Parsley " PRI "	nbonuclease - like	Ypr 10	Somssich et al. 1986
PR – 11 Tobacco class V chitinase	Chitinase typ 1	Ypr 11. Chic	Melchers et al. 1994
PR – 12 Radish Rs – AFP 3	Detensin	Ypr 12	Terras et al. 1992
PR – 13 Arabidopsis	Thionin	Ypr 13. Thi	Epple et al. 1995

THI 2.1

PR – 14 Barley LTP 4

Lipid- transfer
protein

Ypr 14, Lip

Garcia- Olmeda et
al.1995

ثالثاً : المواد الحائثة على تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة :

١- المواد الكيميائية :

توجد العديد من المواد الكيميائية الطبيعية أو الصناعية حائثة للمقاومة الجهازية المكتسبة في النباتات شريطة أن يتوفر فيها بعض الخصائص منها :

١- لا يكون لها أو نواتج تمثيلها تأثير مباشر على نشاط أو حيوية الميكروبات المرضية .

٢- لا يكون لها فعل مشابه لما تحدثه الكائنات المرضية في إثارة ميكانيكيات الدفاع .

٣- لا يكون متخصصاً لكائن ممرض معين وأن يستمر مفعوله لمدة طويلة في وقاية النبات وتنبيه وحث التفاعلات الدفاعية التي سبق الإشارة إليها .

مواد غير عضوية : أملاح الفوسفات مع الخيار والذرة ، الكالسيوم المنفصل في منطقة استعمال الفوسفات ، ثاني أكسيد السليكون (مقروناً بزيادة نشاط إنزيمات الكيتينيز ، بيروكسيديز ، بولى فينول أكسيديز ، بيتا - ٣,١ - جلوكانيز ، السليكون عند إضافته للتربة .

مركبات عضوية طبيعية : تمثل مجموعة عديدة من المركبات :

أ - أحماض دهنية (غير مشبعة ومؤكسدة) : مثل أحماض لينولينيك و أركيدونويك ، أوليك ، لينوليك التي تستحث المقاومة الجهازية المكتسبة في البطاطس ضد فطر فيتوفثورا إنيفكانس . هذا التأثير لا يقتصر بزيادة مستويات حامض السليسليك أو جين المقاومة . المشتقات المؤكسدة من حمض الفا - لينولينيك التي تتراكم في الأوراق المصابة تحث المقاومة SAR عندما تضاف للجذور . هناك أنواع من الفاتيفثورا تفرز مثبرات للمقاومة مثل مادة كربتوجين تحث SAR في الدخان .

ب - مادة نيكوتين أميد : تزداد هذه المادة في أوراق نبات البسلة تحت ظروف قاسية من الأكسدة .

ج - حمض السلسليك (SA) Salicylic acid : لقد كان أول اكتشاف لحمض السلسليك فى أوراق أشجار الصفصاف Salix (لاتينى) وهو دواء الأسبرين الذى يخضع للتحليل المائى عند تناول الإنسان ويتحول لحمض السلسليك فى المحاليل المائية . عند إضافة الإسبرين للنباتات يتحول إلى حمض السلسليك . يعمل هذا الحامض على وقف بناء الغدد المكونة للالتهاب بسبب حمض الأرشيرونك وفى نبات الدخان يخفض الأعراض المرضية عن فيروس موزايك الدخان وقد يؤدى إلى تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية PR's . كذلك يؤدى هذا الحامض إلى تكوين بروتينات مستحثة بالاثيلين وبناء مركبات فينولية (عطرية) تشابه حمض السلسليك . وقد أعلن أحد العلماء أن هذا الحامض يمكن أن يكون إشارة مكتسبة للمقاومة الجهازية SAR وتزداد كمية الحامض حتى قبل أن تظهر تعبيرات المقاومة المكتسبة .

يتبع حمض السلسليك مجموعة استثنائية من الفينولات النباتية وهو مركب كيميائى ذات حلقة عطرية تحمل مجموعة ايدروكسيل أو إحدى مشتقاتها الفعالة . الفينولات النباتية منتجات ثانوية (بسيطة) من تمثيل النبات ووجد أخيراً أنها تلعب دوراً أساسياً فى تنظيم نمو النبات وتكشفه ولها تداخلات مع الكائنات الحية الدقيقة الأخرى . الفينولات مواد أساسية للبناء الحيوى للجنين المهم فى تركيب جدر الخلايا النباتية كما أن معظم الفينولات عبارة عن فيتوكسينات (سموم نباتية) تساعد فى الدفاعات الكيميائية للنبات ضد الميكروبات والحشرات وأكلات العشب . توجد بعض المركبات الفينولية تعمل كمركبات الليلوباثية تؤثر فى إنبات ونمو بعض النباتات القريبة منها . حمض السلسليك له معامل توزيع عالى بين الأوكتانول والماء حيث $\text{LogKow} = 2.26$ من ثم ينتقل لمسافات طويلة فى اللحاء كما أنه فى الحالة الحرة يكون نشيطاً فى الانتقال والتمثيل والتحويل وقد تنتقل من النقطة الأولية للإثارة إلى أنسجة نباتية بعيدة . لقد تأكد وجود هذا الحامض فى النباتات .

حمض السلسليك والأزهار

لقد توصل الباحثون إلى تأثير حمض السلسليك على نضارة الأزهار التى تستمر لمدة طويلة حيث يعمل على تثبيط البناء الحيوى للاثيلين الذى يصل أقصاه على درجة حموضة 3.5 - 4.5 شريطة أن يكون الحامض بتركيز مناسب حيث أن تركيز 40 ميكرومول يحدث تثبيط 50% لإنتاج الأثيلين . معنى ذلك أن الاسبرين يعمل على تأخير شيخوخة الأزهار فى الورد . حمض السلسليك حتى بتركيز 4 ميكرومول تحت على تكوين البرعم الزهرى فى مزارع خلية الدخان . لقد أجريت تجارب على النموات الخضرية والتكاثرية لنبات زانثيوم ذو النهار القصير مع تغذية حشرة المن وقد افترض أن العامل المسئول عن الحث على الأزهار يمكن أن يتواجد فى الندوة العسلية حيث ينقل المن هذا العامل إلى النبات ويحثه على الإزهار . وجد أن الاسبرين عندما يتحد مع السكروز يزيد تفتح

الأزهار في نوع الأوركيد *Orcidium* . لقد ثبت كذلك تأثير حمض السلسليك على توقيت ظهور البرعم الزهري وعدد البزاعم الزهرية ويكون ذلك تعاونياً مع تأثير حمض الجبريلليك ويكون ذلك متبوعاً مع الزيادة في المحتوى الكلى من RNA وإنزيم الفوسفاتيز وبعض البروتينات الأخرى في الأعضاء الخضرية للنباتات المعاملة . لقد اقترحت إحدى النظريات أن حمض السلسليك يحث الأزهار عن طريق عمله كعامل مخلي من جراء الصفات المخلبية الموجودة في الحديد المتوفرة في حمض السلسليك .

تأثير حمض السلسليك على الأغشية وامتصاص الأيونات

لقد اقترح أن حمض السلسليك المنتج في الريزوسفير يعمل كعامل الليلوباثي حيث يخفض تجمع المواد الصلبة في الفروع النباتية القريبة وهذا قد يحدث عن طريق التداخل في انتقال الأيون الغشائي في الجذور . لقد اتضح أن حامض السلسليك بتركيز ٠,٠٥ ملليمول يثبط امتصاص الفوسفات بنسبة ٥٤% ويخفض امتصاص البوتاسيوم في جذور الشعير . كذلك وجد أن الحامض بتركيز ١٠ - ١٠ ملليمول يخفض درجة التنفس بشكل كبير في أوراق نبات الفاصوليا . للحامض تأثيرات أخرى على تكشف النبات حيث يعمل على زيادة عدد القرون والمحصول في الفاصوليا .

التعامل مع حامض السلسليك يستدعي فهم البناء الحيوي لهذا الحامض . من أكثر الميكانيكيات قبولاً تلك التي تبدأ من بناء أحماض البنزويك في النبات حيث تتحطم السلسلة لأحماض السيناميك وهي مواد وسيطة في ممر حمض الشيكيميك ومن ثم فإن SA (ortho - hydroxybenzoic acid) ينظر إليها كمشتق من حامض السيناميك الذي يحدث فيه انقلاب إلى حامض السلسليك من خلال واحد من ممرين مختلفان في موقع وترتيب وتفاعلات الأكسدة - بيتا والأورثوهيدروكسلة والتي يمكن أن تعمل لوحدها في النبات . هناك بناء حيوي إنزيمي والتي استعملت إنزيم ترانس - سينميات - ٤ - هيدروكسيليز والتي تقلب مركب ترانس - سيناميك أسيد إلى بارا - كوماريك أسيد . هذا التفاعل هو الخطوة الأولى للبناء الحيوي من اللجنين والفلافونويدز وكذلك بوبيكونيوم كما اكتشف في البسلة في طور البادرة . هناك كثير من الكائنات الحية الدقيقة تنتج حمض السلسليك عن طريق حامض كروزمك وهو وسيط مهم في ممر حمض الشكمك . لقد وجد أن الميكروب ميلكوباكثيريوم سيمجاتس ينتج ٣٦ ملجم حمض سلسليك لكل عشرة جرامات وزن جاف من الخلايا في يوم واحد . هناك ميكروبات مثل بسيدوموناس تنتج حمض سلسليك كمادة وسطية في البناء الحيوي لكل من بيوكيلين والفينولات سيدوفور .

هناك نظرية تقول أن حمض السلسليك إشارة تحت على تحفيز المقاومة الجهازية المكتسبة ومما يؤكد ذلك أن نفس جينات تكون البروتينات المتعلقة بالمرضية النباتية PR's تكون مستحثة أيضاً بواسطة الإضافات الداخلية لحمض السلسليك .

أظهرت الأبحاث البيوكيميائية أن البروتين المرتبط بحمض السلسليك هو الكتاليز وحيث أن هذا الحامض يوقف نشاط الكتاليز جزئياً للبروتين المرتبط مع حمض السلسليك فقد اقترح أن فوق أكسيد الأيدروجين يعمل كناقل ثانوى للحمض للحث على تفاعلات متعلقة بالدفاع وكذلك المقاومة الجهازية المكتسبة في النباتات ضد مسببات المرضية . هذا ولو أن بعض الأبحاث لم تؤيد هذا الاقتراح حيث أن الدور الحيوى لحمض السلسليك في تثبيط الكتاليز غير معروف . حمض السلسليك له تأثير مباشر على الميكروبات كما يمكن أن يعمل كمثبط لخطوة من خطوات البناء الحيوى لحمض الجسمك . هناك سؤال مطروح:

هل حمض السلسليك مسبب لموت الخلية أم أنه نتيجة هذا الموت ؟

الإجابة على هذا السؤال تبرز المعلومات الآتية : يمكن أن يكون حمض السلسليك ساماً ، الحمض بالتركيز المناسب يحث على حدوث المقاومة الجهازية المكتسبة ، في النباتات ذات المستوى الداخلى المنخفض من الحمض (كما في النباتات المعبرة Cnahun لا يكون تكوين بقع النكرزة النباتية ضعيفاً ، هناك عديد من الطفرات تظهر البقع المرضية وتجمع كميات عالية من حمض السلسليك .

حمض السلسليك ومقاومة الأمراض : لقد وجد أن المعاملة بحمض السلسليك أو الأسيتايل سلسليك أسيد تحث المقاومة النباتية وإنتاج البروتينات المتعلقة بالمرضية حتى في غياب الكائن الممرض . الإضافة الخارجية للأسبرين تحث المقاومة في موقع الإضافة عن طريق حث تكون البروتينات المتعلقة بالمرضية بينما الكائنات الممرضة التي تحث على تكوين هذه البروتينات جهازياً . كذلك وجد أن ٦,٢ - دايهيدروكسى بنزويك قادر على استحداث تكوين البروتينات المتعلقة بالمرضية والمقاوم للفيروسات بدون زيادة البناء الحيوى للثليلين . هناك حالات نادرة يعمل حمض السلسليك على تثبيط ميكانيكية معينة للمقاومة كما في الطماطم المعاملة بجزئيات البكتيك لحمايتها من الحشرات الماصة أو القارضة . هذه الاستجابة يمكن أن تثبط عن طريق معاملة النبات بالاسبرين أو حمض السلسليك .

تطبيقات عملية لحمض السلسليك في إحداث المقاومة الجهازية المكتسبة في النبات :

- ١- إحداث مقاومة جهازية في البسلة ضد مرض البياض الدقيقى .
- ٢- إحداث مقاومة جهازية في الأرز ضد بعض الأمراض النباتية .
- ٣- دور حمض السلسليك في مقاومة الفطر بيثيوم في جذور الخيار .
- ٤- تأثير الظروف البيئية وحمض السلسليك والهورمونات النباتية على لفحة أوراق البسلة .

٥- مقاومة مرض اللقحة المبكرة في الطماطم باستعمال حمض السلسليك .

الجسمونات Jasmonates

الجسمونات JA والميثايل استر لها Me JA توجد في جميع النباتات البراقة وهي تلعب دوراً هاماً في تمثيل النبات . تشتق من حامض لينولينيك بواسطة عملية الأكسدة الوسيطة لإنزيم ليبواكسيجيناز (Lox) وفي الثدييات تشتق من الأحماض الدهنية بواسطة إنزيم Lox وهي تتحرك بسهولة داخل النبات في كل من الطور السائل أو الغازي . الميثايل جسمونات توجد على شكل بخار متطاير كما هو الحال مع الاثيلين . تؤثر الجسمونات على العديد من العمليات الفسيولوجية المختلفة في النبات مثل نمو الجذور ، تكوين الدرنات ، التفاف المحاليق ، شيخوخة الأوراق وفتح الثغور . الجسمونات يمكن أن تقوم بدور وسيط لاستجابة النبات للضغوط الخارجية ومنها مهاجمة مسببات الأمراض أو الحشرات الماصة . التركيزات الواطية من الجسمولين تحفز وتحتث مثبطات إنزيم البروتينيز مثل الثيونين ، أوزمونين وبروتين جدار الخلية الغنى بالبرولين وإنزيمات أخرى داخلية في التفاعلات الدفاعية في النباتات مثل PAL ، Lox وكا لكون سينسيز . يمكن القول أن الجسمونات تساعد في وقف الكائنات الدقيقة المرضية حيث تزداد عملية البناء الحيوي للجسمونات مع الإصابة المرضية . لقد ثبت أن حمض الجسمونيك ومادة ميثايل استرجسمونيك مشتقات دهون نباتية تلعب دوراً هاماً عند تجريح النباتات وتدخل في تخليق مقاومة جهازية مكتسبة .

إذا استعمل حامض الجسمونيك ومشتق الأستر ميثايل بتركيز أعلى من ١٠٠٠ ميكروجرام / مليلتر على النبات يسبب اصفرار في نباتات الطماطم والبطاطس بعد ٢ - ٣ أيام من الرش والتركيزات الأعلى تخفض من نمو النباتات وتخفض من محتوى الكلوروفيل A , B . عند الرش على سطوح الأوراق حقق الوقاية عندما يرش الفطر المرض حيث تعتمد درجة الوقاية على تركيز الجسمونات والفترة الفاصلة بين رش المركب ورش الكائن المرض حيث وصلت إلى ٩٢% بعد ساعتين مع تركيز ١٠٠ ميكروجرام / مليلتر . لقد زادت نسبة الوقاية الموضعية والجهازية في نباتات الطماطم بزيادة جرعة حمض الجسمونيك إلى ٢٥٠٠ ميكروجرام / مليلتر ضد اللقحة المتأخرة .

السستمين Systemin

عندما تهاجم الحشرات النباتات تحدث استجابة على شكل تجمع مثبطات إنزيم البروتينيز في الأوراق التي أضررت وتلك التي لم تضار وهذه المثبطات تقوم بتنشيط نشاط إنزيم الحمض الموجود في القناة الهضمية للحشرة مما يؤدي إلى سوء التغذية وخفض النمو وموت الحشرة . لقد تم عزل إشارة جهازية من الطماطم تتكون من بيتايد تكون من ١٨ حمض أميني يسمى سستمين وتوجد بكميات ضئيلة للغاية وتحت على بناء مثبطات

الإنزيم بروتينيز . هناك مركبات أخرى مثل حمض الأبسيسيك (ABA) والجسمونات تحت إنزيم البروتينيز (Pin 2) مثبت البروتين وتعبيرات الجين . يتوزع السستمين خلال جروح الورقة خلال نصف ساعة ثم تنتقل إلى حامل الورقة والساق والأوراق العلوية خلال عدة ساعات وهي تشابه حركة السكرورز وتثبط عملية الانتقال بواسطة السلفهيدريد وهو مشتق حامض السلفونيك . يبنى السستمين على أساس أنه بادئ البروتين يتكون من ٢٠٠ حمض اميني . السستمين يحث نشاط إنزيم أكسدة بولى فينوليز فى أوراق نباتات الطماطم بعد الإصابة .

مركب بنزوثياديازول (BTH) Benzothiatiazole

مما سبق أتضح مقدرة النباتات على إظهار مقاومة ضد عوامل حيوية (آفات) وأخرى غير حيوية (طبيعية وكيميائية) من خلال ميكانيكيات متعددة يمكن تنشيطها من خلال الإصابة الموضعية ويطلق على هذه الظاهرة فرط الحساسية وبعد ذلك تتحقق المقاومة الموضعية أو الجهازية المكتسبة بإنتاج عوامل المقاومة البيوكيميائية مثل الفيتوأكسينات وتكوين الكالوس واللجنة . استجابة المقاومة الجهازية المكتسبة تكون من خلال تجمع بروتينات مرتبطة بالمرضية PR's مثل بيتا - ٣,١ - جلوكانيزيس وبروتينات غنية بالسستين وأحماض السلسليك والجاسمونات والأن مادة بنزوثياديازول (BTH) الذى يباع تجارياً تحت الاسم Bion . لقد ثبت كفاءة BTH فى الوقاية من مرض البياض الزغبي المتسبب عن الفطر بلازموبارا هيلنسى فى عباد الشمس عند معاملة التربة أو رشاً على المجموع الخضرى وعندما يضاف إليه مادة ميتالاكسيل كمعاملة تربة زادت المقاومة ضد المرض . هناك مرض اللفحة النارية فى التفاح المتسبب عن البكتريا إروينيا أميلوفسورا وكانت تكافح بواسطة المضادات الحيوية مثل استربتومايسين أو مركبات النحاس ولكن تكونت سلالات مقاومة لها مما دعى العلماء إلى محاولات تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة SAR باستخدام مركب BTH الذى أثبت كفاءة كبيرة فى تحقيق مقاومة التفاح ضد غزو هذه البكتريا .

مركب BTH ومركب Milsana

مستخلص أوراق نبات رينوتيريا ساكالينسيز يستخدم بنجاح فى إثارة نباتات الخيار الإنجليزي الطويل لمقاومة فطر البياض الدقيقى المتسبب عن الفطر سفيروثيكا فوليجينيا . هذا المركب BTH يلعب دوراً مشابهاً لحمض السلسليك فى ممر النقل الإشارى الذى يؤدي إلى تعظيم وتنشيط المقاومة الجهازية المكتسبة ويقال أن هذه المقاومة يرجع إلى زيادة تكوين الحليمات واستجابة الخلية لتفاعل فرط الحساسية . أما المركب ميلسانا وجد أنه يزيد من نسبة كل من البيروكسيديز ، بيتا - ٣,١ - جلوكانيزيس ويشكل نسبة عالية من الفينولات حيث يخلق مقاومة موضعية . لقد نجح مركب BTH فى تحفيز المقاومة

النباتية للقمح ضد مرض البياض الدقيقى المتسبب عن الفطر بلوميريا جرامينيس وهذا المرض قد يظهر وينتشر بشكل وبائى فى الأصناف الحساسة . عند استخدام BTH بمعدل ٣٠ جرام مادة فعالة للهكتار تتشجع وتدوم المقاومة لمدة طويلة وهو يعمل بطريقة تماثل ما يحدثه حمض السلسليك .

مادة ٦,٢ - دايكلورو أيزونيكوتينيك أسيد (INA)

هذه المادة والمثيل استر لها يرمز إليها INA وهى تحفز مقاومة الخيار والأرز والعديد من المحاصيل الأخرى ضد بعض الكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية والفيروسية فى الصوبات الزراعية . مركب INA يسبب زيادة حث نشاط إنزيم ليبوكسيجيناز فى الأرز خلال يومان من الإضافة مما يحقق مقاومة ضد مرض لفحة الأرز . المركب نجح فى تحقيق مقاومة نباتات فول الصويا ضد فطر سكليروتينيا سفليروثيوم المسبب لمرض العفن الأبيض حيث تصل نسبة الخفض فى الإصابة ٢٠ - ٦٠% مما يؤدى إلى زيادة الإنتاج .

مركب بابا (BABA) DL - B - amino - n - butyric acid

التركيب الكيميائى لهذا المركب DL - 3 - aminobutyric acid وهو يحقق مقاومة فعالة فى نباتات الطماطم والبطاطس والدخان جهازياً ضد فطريات الفيتوفثورا انفستانس والبيرووسبورا . هذا المركب لا يؤثر على الفطريات فى المعمل أو فى النبات بينما له تأثير علاجى وهو يؤثر على تحور جدار الخلية . هناك مادة قريبة الشبه بمركب BABA من مشتق حامض بيوتانويك تحث على مقاومة الطماطم ضد مرض البياض الزغبى . لقد تأكد أن نباتات الفلفل المحقونة بعزلة غير شديدة المرضية من الفطر فيتوفثورا كابسيكى أو المعاملة بمركب BABA تجعل النباتات قوية وتقاوم الإصابة التالية بسلالة الكائن الممرض شديد المرضية . تختلف مستويات المقاومة تبعاً لطبيعة مشابه حمض الأمينوبيوتيريك والتركيز المستخدم وطريقة الاستخدام ومراحل نمو النبات وكثافة اللقاح . لقد ظهر أن تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية مثل بيتا - ٣,١ - جلوكانيز والكيستينيزيس والمستوى الداخلى لحمض السلسليك كلها تتدخل فى تخليق مقاومة ضد لفحة فيتوفثورا فى نبات الفلفل المعامل بمركب BABA .

يتسبب مرض البياض الزغبى فى عباد الشمس عن الفطر بلازموبارا هيليانسى وقد استعملت المركبات الثلاثة لمشتقات حامض الأمينوبيوتيريك , BABA , GABA فى حث المقاومة النباتية ضد هذا المرض . لم يثبت أن لهذه الكيمائيات سمية على الفطر الممرض أو النبات عندما تستعمل بتركيز ٢٠٠ ملليجرام / كيلوجرام تربة وعند زيادة التركيز إلى ٣٠٠ مللجم / كجم تربة سبب اصفرار خفيف فى الأوراق وحدث

تقزم في النبات عن المقارنة . أحدث مركب BABA زيادة معنوية في مقاومة المرض بنسبة ٨٣% . المركب هذا فعال في حماية نباتات عباد الشمس ضد الإصابة بالفطر الممرض عندما تستعمل في التربة قبل يوم واحد من الحقن بالكائن الممرض فقد حقق وقاية بنسبة ٨١% . يعتبر فطر البياض الزغبي في عباد الشمس نموذجاً مناسباً جداً لدراسة التفاعل بين الكائن الممرض والميكورهيذا .

مركب رايبوفلافين Riboflavin

عبارة عن فيتامين ينتج بواسطة النباتات والميكروبات وهو يعمل كإنزيم مرافق في كثير من العمليات الفسيولوجية في النبات والحيوان والميكروبات . يتدخل الرايبوفلافين في نظام مضادات الأكسدة والأكسدة الفائقة وهما العمليتان اللتان تؤثران على إنتاج الأكسجين المتفاعل الوسيط في الجهد المؤكسد وما ينتج عنه من تفاعل فرط الحساسية . الرايبوفلافين مادة مثيرة تهيج النباتات لتكوين مقاومة جهازية مكتسبة كما قد يكون له دور في نقل إشارة المقاومة . عندما يرش على المجموع الخضري يحفز المقاومة ضد كثير من الأمراض التي تصيب نباتات الدخان ويخفض الإصابة بمرض البياض الدقيقي في نباتات الفراولة عندما يتحد مع الميثيونين أو الأيونات المعدنية أو المطهرات السطحية . المركب يشجع جينات البروتينات المتعلقة بالمرضية PR's في نباتات الدخان ويخلق مقاومة جهازية ضد بيروسبورا باراسيتكا ، بسيدوموناس سيريكيا ، الترناريا الترنا ، فيروس موزايك الدخان TMV . التأثير المنبه لمركب رايبوفلافين يتطلب بروتين كينييز والفعل المنظم بواسطة جين NIM / NPI ولكن لا يتطلب تجمع حمض السلسليك .

لقد اتضح أن الريبوفلافين ليس له تأثير مثبت على نمو الكائنات الحية الدقيقة سواء كانت فطريات أو بكتريا كما أنه غير سام على النباتات الراقية . أكدت العديد من الدراسات أن الرايبوفلافين يحث وينبه المقاومة الجهازية في العديد من النباتات ضد العديد من الممرضات النباتية . المقاومة المستحثة بالرايبوفلافين ليست متخصصة على نبات معين أو كائن ممرض معين ولكن ضد مدى واسع من النباتات والأمراض .

حامض الأكساليك Oxalic acid

لقد سبق القول أن المقاومة الجهازية التي تظهر في النبات تعتمد على عدة ممرات دفاعية منها : اللجنين ، بروتينات متعلقة بالمرضية ، فيتوأكسينات ، بروتينات صغيرة مضادة للميكروبات مثل الثيونينات والدفنسينات . كذلك أشرنا إلى وجود جزيئات كبيرة مثل حمض السلسليك وحمض الجسمونيك والاثيلين تدخل في تفاعل المقاومة الجهازية المكتسبة . هناك ممرين ناقلين للإشارة الحادة على المقاومة الأول يعتمد على حمض السلسليك وممر مستقل عن حمض السلسليك . يمكن أن يحدث تخليق للمقاومة الجهازية في المحاصيل عن طريق الإضافات الخارجية لمواد حادة كيميائية مثل ميثيل جسمونات

وهي تماثل في عملها حمض الساليسليك و BTH و حمض INA . أدت صعوبات مكافحة مرض عفن الساق في اللفت المتسبب عن فطر سكليروتينا سكلير وشيوم الكامن في التربة سواء بالمبيدات الفطرية أو الدورة الزراعية إلى الاتجاه نحو اقتراب تحفيز المقاومة الجهازية المكتسبة بكميائيات أخرى مثل حامض الاكساليك . أدت معاملة الأوراق السفلية لنبات اللفت بحمض الاكساليك بتركيز ٢٠ ملليمول إلى خلق مقاومة جهازية ضد مرض العفن الأبيض في الأوراق التالية والساق . لقد اكتسبت نباتات الكوسة مقاومة ضد الإصابة بفيروس موزايك الخيار عند معاملة البذور بحامض الاكساليك بتركيز ١٠ ملليمول .

مواد كيميائية أخرى تحقق حدوث مقاومة نباتية ضد العديد من الأمراض

- مادة DCP ذات التركيب ٢,٢ - داكلورو - ٣,٣ - دايمثيل سيكلوبروبان كربوكسيليك أسيد وصف في البداية على أنه مركب متخصص في مقاومة مرض لفحة الأرز وهو يحدث بعض نشاط البيروكسيديز في النباتات المعاملة بعد الإصابة فإن النباتات المعاملة بمركب DCP تتجمع منها فيتوالكسينيز تسمى مونيللا كتون . كذلك فإن مركب DCP له تأثير على عملية تكوين الميلانين .

- مركب فوس اثيل - آل Fosethyl - AL هذا المركب والميثالكسائل والترايازولات من بين المواد التي تشجع تكوين المقاومة الجهازية المكتسبة في النباتات . النباتات المعاملة مسبقاً بهذه المادة تجمع فيها الفيتوالكسينات بسرعة وتقل فاعلية المثبطات الخاصة بعمليات التمثيل مثل الجليفوسات . لقد أظهرت الأبحاث أن هذا المركب يتحطم إلى حمض الفوسفوريك ذات الكفاءة العالية كمضاد فطري .

- مركب بروبينازول والاسم التجاري له هو أويزيمات يستخدم ضد لفحة الأرز وهو يقوى الدفاعات بعد المهاجمة بالفطر مجنابورث جريزيا . عند معاملة أصناف الأرز القابلة للإصابة بهذا المرض تتصرف النباتات وكأنها تحمل الجين الرئيسي للمقاومة . البروبينازول مركب جهازى يستخدم بنجاح لوقاية الأرز ضد الإصابة بفطر بريكيولاريا أوريزيا . يحدث البروبينازول العديد من إنزيمات الدفاع النباتية ويسبب تجمعات معنوية لعوامل مضادات الكونيديات (مواد سامة فطرية أو أحماض دهنية غير مشبعة تشمل حامض اللينولينيك) .

- مادة DCINA مقاومة لمرض جرب التفاح المتسبب عن الفطر فينتوريا إناكواليس الذى يظهر بشكل وبائى فى العديد من بلدان العالم . تتدخل المقاومة المكتسبة فى جميع مراحل الإصابة باستثناء إنبات الجراثيم الكونيدية وتكوين

أعضاء الالتصاق بينما تأثرت عملية إنشاء الوسادة الهيفية بعد اختراق الكيوتاكل بالمقاومة المكتسبة .

حمض الأرشيدونك (AA)

حمض دهنى رئيسى فى الغشاء الخلوى الميسليومى وجراثيم الكائن الممرض . من المحتمل أن يعمل AA كمضاد فطرى طبيعى يحث على تكوين الفيتوالكسين . لقد تم الحصول على مقاومة فى البطاطس عندما عوملت الأوراق بتحضيرات جدر خلوية من الفطر *P. infestans* تحتوى على AA والحمض الدهنى القريب منه (EAA) ذات التركيب Eicosapentaenoic . المعاملة بـ حمض AA تقي نباتات البطاطس من مرض اللفة المبكرة المتسبب عن الفطر الترناريا سولانى .

إحداث مقاومة لبكتريا العفن الطرى فى البطاطس عن طريق استخدام بعض الحاثات أو المثبرات . يحدث هذا العفن فقد اقتصادى كبير فى درنات البطاطس فى المخزن أى بعد الجمع والمرض يتسبب عن البكتريا إروينيا كارو توفورا أتروسيبتكا . لابد من وجود جروح على الدرنه حتى تستطيع البكتريا اختراقها . المثبرات التى تحدث مقاومة فى نباتات البطاطس من الأصناف الحساسة لهذا المرض فى الحقل هى جسمك أسيد (JA) والمثيل استر لهذا الحمض (Me JA) عندما تستخدم رشاً على المجموع الخضرى حيث تحث على تخليق مقاومة موضعية وجهازية لهذا الفطر *P. infestans* كما أن استخدام مكونات الجدار الخلوى لهذا الفطر تخلق مقاومة جهازية فى البطاطس .

المقاومة الجهازية المكتسبة عن طريق الكائنات الحية الدقيقة

لقد سبق القول أن المقاومة الجهازية المكتسبة يمكن أن يخلق بواسطة مواد كيميائية وكذلك الأحياء الدقيقة . من الأمثلة المعروفة عن المقاومة بالكائنات الدقيقة أمراض البياض الدقيقى . يتسبب البياض الدقيقى فى العنب عن الفطر *Uncinula npcator* واسع الانتشار فى العالم يهاجم الأزهار والعناقيد والأوراق والسيقان والثمار ويسبب فقد كبير فى المحصول . لقد وجد أن الحقن المسبق لنباتات العنب بفطر البياض الزغبى بلازموبارا فيتيكولا يحدث مقاومة ضد الإصابة بفطر البياض الدقيقى . يتسبب مرض البياض الدقيقى

في الخيار عن الفطر سفيروثيكا فوليجينيا حيث يهاجم النباتات النامية في كل من الحقل والصوب وتعتمد مكافحته على استخدام المبيدات الفطرية . يمكن أن تستحث المقاومة الجهازية ضد الأمراض النباتية المختلفة عن طريق رش الأوراق السفلية من نبات الخيار بمحلول أملاح الأكسالات أو الفوسفات . كذلك وجد ان حقن الأوراق السفلية لنبات الخيار بعوامل حيوية مثل كائنات مرضية ضعيفة أو كائنات ممرضة شديدة القوة المرضية والتي تسبب بقمع موضعية محدودة تخلق مقاومة جهازية مكتسبة ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية والفيروسية . حقن الورقتين الأوليتين من نبات الخيار بمعلق جراثيم عزلة الترناريا توكومارينا غير الممرض أو الفطر كلادوسبوريوم جولفوم مثل حقنها بالكائن الممرض المسبب للبياض الدقيقي يخلق مقاومة جهازية لهذا المرض على الأوراق من الثانية حتى الخامسة . أمكن تحقيق وقاية لنباتات الطماطم من الإصابة باللفحة المتأخرة باستعمال فيروس نكروز الدخان . كذلك أمكن وقاية الطماطم من مرض ذبول الفيوزاريوم باستعمال الفطر بنيسيليوم أوكساليكم (الجدول ٣-١) .

جدول (٣-١) : نموذج للكائنات الحية الدقيقة الحاتة على كل من المقاومة الجهازية المكتسبة أو المستحثة والكائنات الممرضة التي تظهر ضدها المقاومة

Plant	Inducer organim	SAR	ISR	Systemic protection aginst	SAR genes
Alfalfa	<i>Colletorichum Lindemuthiaum</i>	+		<i>Colletorichum Lindemuthiaum</i>	NR
Arabido- -psis	<i>Turnip crinkle virus</i>	+		<i>Pseudomonas syringae</i>	PR-1,PR-2
	<i>Pseudomonas syringae</i>			<i>Turnip crinkle virus</i>	
	<i>Fusarium oxysporum</i>			<i>Pseudomonas syringae</i>	
				<i>Peronospra parusitica</i>	
	<i>Pseuomonas fluorescens</i>		+	<i>Fusarium oxysporum f..sp. rophani</i>	Absent

	<i>WCS 417</i>			<i>Pseudomonas syringae pv tomato</i>	
Aspara- gus bean	<i>Tobacco necrosis virus</i>	+		<i>Tobacco necrosis virus</i>	NR
Barley	<i>Tobacco rattle virus</i>				
Bean*	<i>Erysiphe graminis f.sp. hordei</i>	+		<i>Erysiphe graminis f.sp. hordei</i>	NR
	<i>Colletorichum Lindemuthiaum</i>	+		<i>Colletorichum Lindemuthiaum</i>	NR
	<i>Colletotrichum Lagenarium</i>			<i>TNV</i>	

NR : not recorded* : SAR experiments with field tests were performed with these plants.

المراجع العامة

- Abdel-Aziz, N.A., 1999. Effects of chemical and heat treatments of seeds on squash infection by cucumber moosaic virus. *Assiut J. of Agric. sci*, 30, 4: 193-206.
- Anfoka, G. and H. Buchenauer. 1997. Systemic acquired resistance in tomato against *Phytophthora infestans* by pre-inoculation with tobacco necrosis virus. *Physiology and Molecular Plant Pathology*, 50: 85-101.
- Brisset, M.M., et al., 2000. Acibenzolar-S-methyl induces the accumulation of defense – related enzymes in apple and protects from fire blight. *European J. of Plant Pathology*, 106: 529-536.
- Chen, C., et al., 1999. Role of salicylic acid in systemic resistance induced by *Pseudomonas* sp. against *Pythium aphanidermatum* in cuculber roots. *European J. of Plant Pathology*, 105: 477-486.
- Coquoz, J.L., et al., 1995. Archidonic acid induces local but not systemic synthesis of salicylic acid and confers systemic resistance in potato plants to *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani*. *Phytopathology*, 85: 1219-1224.
- Dann, E., et al., 1998. Effects of treating soybean with INA and BTH on seed yields and the level of disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in field and greenhouse studies. *European J. of Plant Pathology*, 104: 271-278.
- Dong, H. and S. Beer. 2000. Riboflavin induces disease resistance in plants by activating a novel signal transduction pathway *Phytopathology*, 90: 801-811.
- Dutton, M.V., et al., 1997. Induced resistance to *Erwinia carotovora* f.sp. *atroseptica*, through the treatment of surface wounds of potato tubers with elicitors. *J. Phytopathology*, 145, 163-169.
- Gahalain, N., et al., 1999. Effect of environmental conditions, salicylic acid and phytohormones on pea leaf blight. *Indian Phytopath.*, 52(3): 270-273.
- Geert, D.M. and M. Hofte. 1997. Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7WSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on bean. *Phytopagthology*, 87: 588-593.
- Jeun, Y.C., et al., 2000. Biochemical and cytological studies on mechanisms of systemically induced resistance to *Phytophthora infestans* in tomato plants. *J. phytopathology*, 148: 129-140.

- Purkayastha, R.P. 1998. Disease resistance and induced immunity in plants. *Indian Phytopath*, 51(3): 211-221.
- Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. plant. Physiol. Plant Mol. Boil.*, 43: 439-463.
- Ryals, J.A., et al. 1996. Systemic Acquired resistance. *The Plant Cell*, 8: 1809-1819.
- Ryals, J., S., Uknes and E. Ward. 1994. Systemic Acquired Resistance. *Plant Physiology*, 104: 1109-1112.
- Reuveni, M. 1999. Resistance to powdery mildew in grapevine induced by *Plasmopara viticola*. *Can. J. plant. Pathology*, 21: 272-275.
- Silverman, P., et al., 1995. Salicylic acid in rice. *Plant Physiology*, 108: 633-639.
- Schweizer, P., et al., 1999. Different patterns of host genes are induced in rice by *P.syringae*, a biological inducer of resistance and the chemical inducer BTH. *European J. of Plant Pathology*, 105: 659-665.
- Ton, J., et al., 2001. Heritability of rhizobacteria – mediated induced systemic resistance and basal resistance in *Arabidopsis*. *European J. of Plant Pathology*, 107: 63-68.
- Tosi, L. and A. Zazzerini. 2000. Interactions between *Plasmopara helianthi*, *Glomus mosseae* and two plant activators in sunflower plants. *European J. of Plant Pathology*, 106: 735-744.
- Ward, E., et al., 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Ann. Rev. phytopathol.* 32: 439-459.
- Wurms, K., et al., 1999. Effects of miltana and benzothiadiazole on the ultrastructure of powdery mildew haustoria on cucumber. *Phytopathology*, 89: 728-736.
- Xue, L., et al. 1998. Systemic induction of peroxidases, 1, 3-B-Glucanases, chitinases, and resistance in bean plants by binucleate *Rhizoctonia* species. *Phytopathology*, 88: 359-365.
- Zhou, T. and T.C. Paulitz. 1994. Induced resistance in the biocontrol of *Pythium aphanidermatum* by *Pseudomonas* sp. on cucumber. *J. Phytopathology*, 142:51-63.

مراجع خاصة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية :

- Van Loon, L.C., Pierpoint, W.S., Boller, T. and Conejero, V. 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis – related proteins. Plant Mol. Biol. Reporter 12: 245-264.
- Van loon, L.C. and Van Strein, E.a. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. Physiol. Mol. Plant Pathol. 55: 85-97.

رابعاً : المقاومة الجهازية المستحثة :

Induced sysbemic resiatance (ISR)

المقاومة الجهازية المستحثة تحدث تحت تأثير أو استحثاث النبات بواسطة أنواع من الريزوبكتريا وليس لحمض السلسليك تعبير إشارى فى هذه المقاومة وإنما تعتمد على إشارية أخرى أهمها حامض الجسمك والاثيلين كما لا يوجد دور للبروتينات المتعلقة بالمرضية دور فى هذه المقاومة . لقد سبق القول أن هناك طريقتان للحصول على المقاومة المتخلقة فى النبات . الأولى تعرف بالطريقة الكلاسيكية عن طريق الإصابة المسبقة بالكائنات الممرضة المسببة للنكرزة مؤدية إلى مقاومة جهازية فى الأجزاء البعيدة من النبات وهذا يطلق عليه المقاومة الجهازية المكتسبة SAR وتتميز بزيادة تجمعات حامض السلسليك وتكون دائماً مصاحبة بتعبيرات لتشفير الجينات الخاصة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية . النوع الثانى يتكشف استجابة لاستعمار جذور النبات ببعض سلالات معينة من الرايزوبكتريا غير الممرضة وهذا هو نوع المقاومة الذى نحن بصدد الآن ويعرف بالمقاومة الجهازية المستحثة (ISR) . هذا النوع من المقاومة فعال فى مجموعة مختلفة من النباتات تحت الظروف التى تبقى فيها الرايزوبكتريا منفصلة مكانياً عن الكائن الممرض الذى تتخلق ضده هذه المقاومة . من أكثر النباتات التى أجريت عليها دراسات ISR هو نبات الأرابيدوسز .

تتواجد بكتريا الريزوسفير بأعداد كبيرة على سطوح جذور أنواع كثيرة من النباتات حيث أن الجذور أو فضلاتها تزودها بالمواد الغذائية عن طريق إفرازات الجذور . هناك سلالات معينة من البكتريا تتواجد فى منطقة الريزوسفير تسمى البكتريا المشجعة لنمو النبات (PG PR) . عند إضافة هذه البكتريا إلى جذور النبات فإنها تشجع النمو وتحسن من قدرته على تحمل الظروف القاسية وزيادة تكاثر الريزوبكتريا مما يقلل من الأضرار الناشئة من الكائنات الضارة . تعتبر البكتريا الضوئية من أنواع بسيدوموناس من أكثر أنواع الريزوسفير فعالية فى خفض الأمراض الكامنة فى التربة وفى الأراضى الكاتبة للأمراض بالرغم من وجود الكائنات الممرضة . تحدث هذه البكتريا دورها من خلال

ميكانيكيات متعددة فمثلاً السايديروفور البكتيرى يثبط الكائنات الممرضة للنباتات عن طريق المنافسة على الحديد .

يمكن تحقيق المقاومة الجهازية ضد الكائنات الممرضة للجذر عن طريق إضافة البكتريا الحائثة على واحد من أجزاء النظام الجذرى ويضاف الفطر الممرض على جزء آخر من الجذر كما يمكن إتباع طريقة الجذر المشقوق . وقاية المجموع الخضرى من الإصابة بالكائنات الممرضة أسهل عن وقاية المجموع الجذرى . إن إضافة الريزوبكتريا إلى البذور أو التربة التى تزرع فيها أو تنقل إليها البادرات يمكن أن تتحرك وتنتقل داخليا فى نسيج الأجزاء النباتية الهوائية . الجدول (٤-١) يوضح السلالات البكتيرية التى تحدث المقاومة الجهازية المستحثة وأنواع النباتات التى تحدث فيها .

جدول (٤-١) : بعض السلالات البكتيرية المسئولة عن المقاومة الجهازية المستحثة

Plant species	Bacterial strain	Challenging pathogen	Disease symptoms
Arabiopsis	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417	<i>Fusarium oxysporum f.sp. raphani</i>	Vascular wilt
		<i>Pseudomonas syringae pv. Tomato</i>	Bacterial speck
		<i>Peronospora parasitica</i>	Downy mildew
	<i>Pseudomonas putida</i> WCS358	<i>Fusarium oxysporum f.sp. raphau</i>	Vascular wilt
		<i>Pseudomonas syringae pv. Tomato</i>	Bacterial speck
Brsn	<i>Pseudomonas aeruginasa</i> 7NSK2	<i>Botrytis cinerea</i>	Gray mold
		<i>Colletotrichum lindemuthiaum</i>	Anthracnose
		<i>Pseudomonas</i>	Halo blight

	<i>fluorescens</i> S97	<i>syringae</i> pv. <i>Phaseolicola</i>	
Camation	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>raphani</i>	Vascular wilt
Cucumber	<i>Pseudomonas aureofaciens</i> 25-33	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	Anthraxnose

تابع جدول (٤-١) : بعض السلالات البكتيرية المسئولة عن المقاومة الجهازية المستحثة

Plant species	Bacterial strain	Challenging pathogen	Disease symptoms
	<i>Pseudomonas aureofaciens</i> 28-9	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	Anthraxnose
	<i>Pseudomonas aureofaciens</i> 36-5	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	Anthraxnose
	<i>Pseudomonas corrugate</i> 13	<i>Pythium aphanidermatum</i>	Crown rot
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> C15	<i>Pythium aphanidermatum</i>	Crown rot
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> G 8-4	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	Anthraxnose
	<i>Pseudomonas putida</i> 34-13	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	Anthraxnose
	<i>Pseudomonas putida</i> 89B-27	<i>Acalymna vitatum</i>	Herbivory
	<i>Pseudomonas putida</i> 89B-27	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	Anthraxnose
	<i>Pseudomonas putida</i> 89B-27	Cucumber mosaic virus	Systemic mosaic
	<i>Pseudomonas</i>	<i>Diabrotica</i>	Herbivory

<i>putida 89B-27</i>	<i>undecimpunctata</i>	
<i>Peudomonas putida 89B-27</i>	<i>Ervinia tracheiphila</i>	Bacterial wilt
<i>Peudomonas putida 89B-27</i>	<i>Fusarium oxysporumf .sp. lachrymans</i>	Angular leaf spot
<i>Peudomonas putida 89B-27</i>	<i>Fusarium oxysporumf .sp. cucumerinum</i>	Vascular wilt

تابع جدول (٤-١) : بعض السلالات البكتيرية المسؤولة عن المقاومة الجهازية المستحثة

Plant species	Bacterial strain	Challenging pathogen	Diseae symptoms
<i>Serraia marcescens 90 - 166</i>		<i>Acalymna vitatum</i>	Herbivory
<i>Serraia marcescens 90 - 166</i>		<i>Colletotrichum orbiculare</i>	Anthracnose
<i>Serraia marcescens 90 - 166</i>		<i>Cucumber mosaic virus</i>	Systemic mosaic
<i>Serraia marcescens 90 - 166</i>		<i>Diabrotica undecimpunctata</i>	Herbivory
<i>Serraia marcescens 90 - 166</i>		<i>Erivinia tracheiphila</i>	Bacterial wilt
<i>Serraia marcescens 90 - 166</i>		<i>Fusarium oxysporumf .sp. lachrymans</i>	Angular leaf spot
<i>Serraia marcescens 90 -</i>		<i>Fusarium oxysporumf .sp.</i>	Vascular wilt

	166	<i>cucumerinum</i>	
	<i>Serratia</i>	<i>Colletotrichum</i>	Anthraconse
	<i>plymutlica 2-97</i>	<i>orbiculare</i>	
Radish	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS374	<i>Fusarium oxsporum</i> <i>f.sp.ruphani</i>	Vascular wilt
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417	<i>Altemaria brassicicola</i>	Necrotic lesions
تابع جدول (٤-١) : بعض السلالات البكتيرية المسئولة عن المقاومة الجهازية المستحثة			
Plant species	Bacterial strain	Challenging pathogen	Diseae symptoms
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417	<i>Fusarium oxysporum</i>	Necrotic lesions
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417	<i>Fusarium oxsporum</i> <i>f.sp.ruphani</i>	Vascular wilt
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS417	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. Tomato	Necrotic lesions
Tobacco	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 7NSK2	<i>Tobacco mosaic virus</i>	Necrotic lesions
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> CHAO	<i>Thielaviopsis basicola</i>	Black root rot
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> CHAO	<i>Tobacco necrosis</i>	Necrotic lesions
	<i>Serratia marcescens</i> 90-166	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Tabaci</i>	Wildfre
Tomato	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Fusarium oxsporum</i>	Vascular wilt

<i>WCS417</i>	<i>f.sp.lycopersici</i>	
<i>Peudomonas putida 89B-27</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i>	Systemic mosaic
<i>Serratia marcescens 90-166</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i>	Systemic mosaic

هناك مقاييس تخليق المقاومة الجهازية المستحثة (ISR)

لقد وضعت معايير للتأكد من حدوث المقاومة ISR وتمييزها عن SAR .

١- غياب التأثيرات السامة للعامل الحاث على الكائن الممرض المقصود : تستبعد هذه الصفة أية تأثيرات مضادة مباشرة لنواتج التمثيل الفسيولوجي للكائن الحاث على الكائن الممرض خاصة مع المضادات الحيوية المنتجة بكتيريا . بعض المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الرايزوبكتيريا مثل DAP أو PCA تكون سامة للنباتات إذا استخدمت بتركيزات عالية ويمكن أن تحث ISR بنفس الطريقة التي يسبب منها الكائن الممرض نكروز موضعي .

٢- كبح شدة المقاومة المستحثة بالاستعمال المسبق لمثبطات متخصصة تؤثر على جين التعبير في النبات : إذا حدث تثبيط المقاومة المستحثة بواسطة مواد متخصصة مثل اكتينوميسين D (AMD) تكون هذه المقاومة مستحثة بالرايزوبكتيريا .

٣- ضرورة وجود فترة زمنية فاصلة بين استعمال العامل الحاث وبداية حصول الوقاية في النبات : أظهرت الدراسات أنه بشكل عام لكي تزداد الكفاءة الدفاعية في النبات يحتاج من بضعة أيام إلى أسبوع لكي تتكشف كل من SAR أو ISR.

٤- عدم المقدرة على تحديد الجرعة النموذجية للحصول على استجابة كاملة : تستحث المقاومة عندما تحقن النباتات بجرعة من البكتيريا تتجاوز الحجم المطلوب لإحداث بداية تكوين المستعمرة ولا يوجد دليل يشير إلى زيادة المقاومة عندما تزداد الجرعة البكتيرية أكثر من هذا الحجم . عندما تتكون المقاومة الجهازية المستحثة فإنها غالباً ما تستمر طول فترة حياة النبات ولو أن مستوى المقاومة يظهر نقصاً مع تقدم النمو .

٥- عدم تخصص الوقاية : المقاومة المستحثة بواسطة بسيدوموناس فلوريسنس فسي الفجل فعالة ضد ذبول الفيوزاريوم وتخفض من تكوين بقع النكروز المتسببة عن

الكائن الممرض البكتيري غير شديد المرضية بسيدوموناس سيريكيا والكائن الفطري الترناريا براسيكولا .

٦- تكوين المقاومة جهازية وموضعية : الوقاية المستحثة ليست بالضرورة أن تكون جهازية . وجود الرايزوبكتريا الحائثة على المقاومة يجعل هذه المقاومة جهازية ومستمرة .

٧- الاعتماد على الطرز الوراثي (Genotype) في النبات : المعلومات المتوفرة عن هذا الموضوع قليلة. هذه الصفة تفترض وجود اختلافات معنوية في مستوى ونوع المقاومة في أنواع النباتات المختلفة .

المحددات البكتيرية للمقاومة الجهازية المستحثة (جدول ١ - ٥)

جدول (٥-١) : المحددات البكتيرية وأنواع النباتات والسلالات البكتيرية الداخلة في تخليق المقاومة الجهازية المستحثة .

Bacterial strain	Plant pecies : bacterial determinnt	Type
<i>Pesudomonas aeruginos</i>		
Strain 7NSK2	Tobacco : salicylic acid	SAR
	Bean : salicylic acid	SAR
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		
CHAO	Tobacco : siderophore	SAR
WCS 374	Radish : lipopolyacchride siderophore	ISR
	Iron – regulated factor	
WCS 417	Carnation : lipopolysccharide	ISR
	Rasish : lipopolysaccharide ironregulated factor	ISR
	Arabidopsis : lipopolysaccharide	
<i>Pseudomonas putide</i>		ISR

١- عديدات التسكر الدهنية (LSP) Lipopoly saccharid : أظهرت الدراسات أن البكتيريا المقتولة حرارياً من سلالة بسيدوموناس فلوريسنسيز WCS 417 أو الغشاء الدهنى عديد التسكر البكتيرى الخارجى النقى يحث مقاومة القرنفل ضد مرض ذبول الفيوزاريوم . تشارك عديدات التسكر الدهنية فى نمو وبقاء البكتيريا فى النبات بعدة طرق مثل : المساعدة فى الاستيطان وتكوين المستعمرات ، خلق ظروف بيئية مناسبة ، تعمل كحاجز أو عائق ضد المركبات الدفاعية فى النبات ، لها تأثير على تغيير أو تعديل تفاعلات العائل .

٢- السايروفورز Siderophores : هناك عامل محدد أو محددات بكتيرية تبدى أثرها فقط تحت ظروف توفر كمية قليلة من الحديد . وجد أن السلسلة الجانبية لمضادات الجينات الأكسجينية O-antigenic لمادة عديدات التسكر الدهنية تعتبر أكبر محدد للمقاومة الجهازية المستحثة .

٣- حمض السلسليك : ينظر لهذا الحامض على أنه سايروفور مع المقاومة المستحثة المكتسبة . لقد تناولنا فيما سبق تداخل حمض السلسليك بين المقاومتين المكتسبة SAR والحالة ISR . هناك عديد من الأنواع البكتيرية الحاثية على المقاومة يمكن أن تنتج حمض السلسليك على أنه سايروفورز تحت ظروف محددة للحديد فى المزرعة .

الحالة المستحثة فى النبات Induced state in plant

١- المقاومة الجهازية المستحثة وعلاقتها بالبروتينات المتعلقة بالمرضية : لقد ثبت عدم دخول البروتينات المتعلقة بالمرضية فى المقاومة الجهازية المستحثة مما يدل على عدم وجود تعبير لجين هذه البروتينات فى نباتات الفجل المعاملة . هذا يدل على أن ميكانيكية المقاومة المخلفة بواسطة السلالة WCS 374 يختلف عن المقاومة الجهازية المكتسبة SAR .

٢- التغيرات فى تمثيل الفاتيو الكسينيز أو المثبطات تكون غير منتظمة : تعتمد الزيادة فى الكفاءة الدفاعية فى النبات والتي تظهر على شكل مقاومة جهازية مستحثة ISR على وجود مستويات عالية من المركبات التى تثبط الكائنات الممرضة النباتية مثل الفيتوأكسينز كما فى مقاومة القرنفل لمرض ذبول الفيوزاريوم من نوع الجين المتعدد . لقد وجد أن عامل عديد التسكر الدهنى LPS يعمل كعامل محدد قوى للمقاومة ISR فى الفجل .

٣- التغيرات التركيبية : لقد وجد أن نبات الفجل الذى حدث فيه مقاومة جهازية مستحثة ضد ذبول الفيوزاريوم قد عبر عنها بشكل أولى على خفض واضح فى النسبة المئوية للنباتات المريضة وهذا راجع إلى فشل الكائن الممرض فى الوصول واستعمار النسيج الوعائى . هذه الإعاقة يمكن أن تشمل تغيرات خلوية فى خلايا البشرة والقشرة والتي تؤدي إلى تثبيط أكبر فى عملية تكوين المستعمرات .

خامساً : المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة الرايزوبكتريا (تنبيه - تأشير - تعبير) :

لقد سبق القول أن النباتات تمتلك أساليب دفاعية مستحثة مختلفة حتى تتمكن من حماية نفسها ضد مهاجمة الكائنات الممرضة . كذلك تم تناول ما اتفق عليه بالمقاومة المستحثة للمرض حيويًا حيث تنشيط المقاومة فى النبات بعد الإصابة بكائن ممرض بسبب نكزة حيث تحدث مقاومة فى أجزاء النبات غير المصابة كذلك وقد اتفق على أن هذه المقاومة هى المقاومة الجهازية المكتسبة SAR . تتصف هذه المقاومة بحدوث زيادة مبكرة فى البناء الداخلى لحمض السليليك وحدوث تشجيع للجينات المشفرة للبروتينات المتعلقة بالمرضية .

لقد ذكر قبل أن هناك سلالات معينة من بكتريا الرايزوسفير تشجع نمو النبات وأطلق عليها الرايزوبكتريا المشجعة لنمو النبات (PGPR) يوجد كذلك سلالات بكتريا عزلت من التربة الكابحة للمرض طبيعيًا أطلق عليها البكتريا الضوئية من أنواع بسيدوموناس . هناك ما يعرف بالمقاومة الجهازية المستحثة بواسطة الرايزوكتونيا (ISR) (كما فى الفاصوليا والقرنفل والخيار والفجل والدخان والطماطم . لقد درس هذا الموضوع بتوسع فى نبات الأرابيدوسز حيث أظهر مقاومة ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة النباتية الفطرية والبكتيرية والفيروسية .

١- التنبيه Triggering

١-١- المشجعات المختلفة للمقاومة الجهازية المستحثة : تعتمد إثارة المقاومة المستحثة بالرايزوبكتريا على اتحاد العائل مع الرايزوبكتيريوم . السلالات البكتيرية تسلك سلوكًا مختلفًا على أنواع النباتات المختلفة . الجدول (١-٦) يوضح بأن هناك صفات خاصة متميزة بين النبات والرايزوبكتريا الحائثة على المقاومة الجهازية المستحثة يجب توافرها أولاً (أو هى مطلوبة) لتخليق ISR وأن هذه المقاومة تكون محددة وراثيًا . يوضح هذا الجدول استجابة الأنواع المختلفة من نبات الأرابيدوسز للمقاومتين SAR , ISR .

جدول (٦-١) : يبين استجابة الأنواع المختلفة من الأرابيدوسيز للمقاومتين SAR , ISR

Genotype	Phenotype	ISR	SAR
Ecotypes			
Columbia	Wild – type	+	+
Landsberg erecta	Wild – type	+	+
RLD	Wild – type	-	+
Wassilewskija	Wild – type	-	+
Weiningen	Wild – type	+	+
C 24	Wild – type	+	+
Cape Verd. Islands	Wild – type	+	+
Shahdara	Wild – type	+	+
Kashmir	Wild – type	+	+
Renkum	Wild – type	+	+
Dijon		+	+
Mutnts / transgenics ²			
SA related			
NahG	SA deficient	+	-
Sid 1 – 1	SA deficient	+	-
Sid 2-1	SA deficient	+	-
Npr 1-1	SA deficient	-	-
	Non – expressor of PR genes		
Cpr 1-1	SA overproducer ; constitutive expressor of PR genes	++	+

تابع : جدول (٦-١) : يبين استجابة الأنواع المختلفة من الأرابيدوسز للمقاومتين SAR , ISR

Genotype	Phenotype	ISR	SAR
JA related			
Jar 1-1	Affected in JA response	-	+
S -12	Lox2 co- suppressor ; no induced JA Levels	+	+
Ethylene related			
Etr 1-1	Ethylene insensitive	-	+
Ein 2-1	Ethylene insensitive	-	+
Ein 3-1	Ethylene insensitive	-	+
Ein 4-1	Ethylene insensitive	-	+
Ein 5-1	Ethylene insensitive	-	+
Ein 6-1	Ethylene insensitive	-	+
Ein 7-1	Ethylene insensitive	-	+
Eir 1-1	Ethylene insensitive in the roots only	- / +	+

١-٢- المحددات البكتيرية الداخلة فى إثارة المقاومة المستحثة فى نبات الأرابيدوسز: لقد أتضح أن التحضيرات النقية من عديدى السكريات الدهنية (LPS) وتحضيرات جدار الخلية المحتوية LPS من السلالة WCS 417r تكون فعالة فى تخليق المقاومة الجهازية المستحثة كما فى حالة البكتريا المذكورة عندما تكون حية . فى الفجل حيث يتم تنبيه المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة السلالة WCS 417r أفترض أن هناك محددات إضافية وهى توفر الحديد بتركيز منخفض وفى سلالة أخرى WCS 358 r فإن المحددات البكتيرية تنظيم الحديد عبارة عن سايدروفور نوع من البكتين الكاذب لهذه السلالة . الطفرة التى ينتقيها البناء الحيوى لهذا السايدروفور تكون غير قادرة على تخليق المقاومة

٢- التأشير أو إصدار الإشارات Signalling

٢-١- الممر الإشارى الجديد الذى ينظم المقاومة الجهازية المستحثة فى الأرابدوبسز: لقد سبق القول أن المقاومة الجهازية المستحثة ISR فإنها تكون مستقلة عن حمض السلسليك ولكنها تعتمد على حمض الجسمك أو الايثيلين . أدت الدراسات على ISR الناتجة بواسطة السلالة 417 Lucs تتبع ممر إشارى جديد الذى فيه مكونات من حمض الجسمك والايثيلين تكون داخلية فيه على التعاقب لتنبه تفاعل دفاعى يشبه SAR .

٢-٢- تشرب الأوراق بالرايزوبكتريا المخلقة ISR تنبه من ISR : لقد وجد أن تشرب أوراق النبات بالبكتريا المخلقة للمقاومة الجهازية المستحثة بسيدوموناس فلوريسينس Cucs 417 r تستحث المقاومة ضد المرض بسيدوموناس سيرنيجيا فى الطماطم DC 3000 فى الأوراق غير المستوية . لقد ثبت أن الرايزوبكتريا المخلقة مقاومة جهازية مستحثة تنبه نفس الممر الإشارى الجهازى عندما تضاف إما إلى الجذور أو إلى الأوراق .

٢-٣- المقاومة ISR تتطلب تأثيراً معتمداً على الايثيلين فى موقع التخليق : لقد افترض أن تأثير الايثيلين يكون مطلوباً فى مناطق إضافة المادة الحاثية . هذا يؤدي إلى القول بأن الايثيلين يكون داخلاً فى توليد أو نقل إشارة المقاومة الجهازية المستحثة المنقولة. هذا لا يظهر إمكانية استجابة مكونات الايثيلين التى يمكن أيضاً أن تكون مطلوبة لتعبيرات المقاومة الجهازية المستحثة فى أنسجة بعيدة عن موضع التخليق .

٢-٤- المقاومتان المستحثة والمكتسبة تعملان بصورة تجمعية : لقد تأكد أن الجزيئات الإشارية حمض السلسليك والجسمك دوراً مهماً فى ممرات مقاومة المرض المستحثة . يمكن أن يعمل حمض الجسمك والايثيلين بانسجام فى تشجيع استجابات الدفاع بينما حامض السلسليك يمكن أن يثبط الاستجابات المعتمدة على حمض الجسمك جريباً مع حقيقة أن المقاومتين المكتسبة والمستحثة تتشارك فى العامل المنظم (NPRI) . لقد ثبت أن ممر SAR , ISR تكون متوافقة وبالتالي لا يكون هناك تداخل معنوى بين ممرات هذه التأثيرات . يؤدي التأثير التنشيطى المترامن لكل الممرين إلى تأثير تجمعى على مستويات الوقاية المستحثة ضد الكائن الممرض Pot DC 3000 فى الطرز الوراثى للأرابدوبسز .

٣- التعبير Expression

٣-١- البحث عن جينات متعلقة بالمقاومة الجهازية المستحثة : تتصف حالة المقاومة الجهازية المكتسبة المستحثة بواسطة الكائن الممرض عن طريق التنشيط المصاحب لمجموعة جينات متعلقة بالمرضية . فى النباتات المعبرة للمقاومة الجهازية المكتسبة تتجمع منتجات الجين المتعلق بالمرضية جهازياً على مستويات من ٠,٣% إلى ١% من مجموع mRNA ومحتوى البروتين .

٣-٢- تحديد موقع جديد ينظم ISR الناتجة بواسطة الرايزوبكتريا (1-ISR) : في الدراسات الوراثية لتحديد الجينات المتعلقة بالمقاومة الجهازية المستحثة تم جمع إحدى عشر طرز وراثي من نبات الأرابيدوسيز وأجرى عليها فصل لمعرفة كفاءتها في التعبير عن ISR ضد DC 3000 Pst . وجد عند تحليل كل من الطرز الوراثية , WWJ RLD ذوات الاستجابة للآثيلين تبين أن كلا النوعين يظهران حساسية منخفضة للآثيلين تكون مرافقة انعزالية مع الإليلات المنتحية للموضع 1 - ISR ومن ثم اقترح أن الموقع 1-ISR في الأرابيدوسيز يشفر مكون جديد لممر استجابة الآثيلين والذي يلعب دوراً مهماً في تأثير مقاومة المرض .

٣-٣- إنتاج حامض الجسمك والآثيلين أثناء تكوين ISR : زيادة إنتاج حامض الجسمك والآثيلين تعتبر علامة مبكرة للدفاع النشط في النباتات المصابة . عندما تضاف هذه المواد خارجياً تستطيع أن تستحث المقاومة بنفسها . لقد خلص الباحثون إلى أن تبعية حامض الجسمك والآثيلين للمقاومة الجهازية المستحثة يكون مبنياً على زيادة الحساسية لهذه الهرمونات إذا قورنت مع الزيادة في إنتاجها .

٣-٤- فعالية الجينات المستجيبة لحمض الجسمك في النبات هي استجابة لـ ISR : إذا كان اعتماد الجسمك أسد والآثيلين في المقاومة ISR مبنياً على زيادة الحساسية لهذه الجزيئات الإشارية فإن النباتات المعبرة عن المقاومة ISR من المتوقع أنها تتفاعل بأسرع أو بأكثر قوة مع حمض الجسمك المستحث بالكائن الممرض أو إنتاج الآثيلين .

٣-٥- ISR تكون مرافقة مع زيادة كفاءة تحويل ACC إلى الآثيلين : في النباتات الراقية ينتج الآثيلين من الميثيونين عن طريق (S - adenosyl - L - methionine) (SAM) أو (ACC) 1- aminocyclopropane -1- carboxylic acid : ميثونين ← SAM ← ACC ← آثيلين . الخطوتين الأخيرتين لهذا الممر الحيوي يدخل فيها إنزيمات مساعدة هي ACC oxidases , ACC synthase بالترتيب . لقد ثبت أن كفاءة ACC أو أكسيدازيس هي المقيدة لإنتاج الآثيلين . لقد خلص أن الآثيلين يعتبر مركب إشاري هام في استجابات دفاع النبات مع أنه ليس مطلوباً لتكشف المقاومة SAR إلا أنه يزيد الحساسية في نبات الأرابيدوسيز لحمض السلسليك .

مقدرة ISR على كبح شدة المرض تحت الظروف الحقلية

نظراً لأن البكتريا المشجعة لنمو النبات (PGPR) الحائثة على المقاومة ISR تكون متواجدة طبيعياً في منطقة الرايزوسفير في النبات وهي من سكان التربة يبرز السؤال : هل النباتات النامية تحت الظروف الحقلية يمكن أن تستحث طبيعياً ؟ لقد وجد أن البكتريا التي تستعمر منطقة الريزوسفير PGPR تستطيع أن تقى النباتات من المرض تحت

الظروف الحقلية التجارية والمقاومة هنا تعزى إلى ISR وتسبب زيادة الإنتاج . يعتمد تخليق المقاومة على استعمار النظام الجذري في النبات بواسطة الرايزوبكتريا الحائثة إلى المقاومة لتنبية ISR . يمكن إنجاز هذا العمل عن طريق إضافة المعلقات البكتيرية إلى التربة قبل الزراعة أو أثناء نقل البادرات أو عن طريق تغليف البذور بأعداد هائلة من هذه البكتريا .

قابلية التوريث في المقاومة الجهازية المستحثة ISR

لقد اتفق على أن المقاومة المستحثة تقيد نمو الكائن الممرض وتحدث خفض في شدة المرض . لقد عرفت هذه المقاومة منذ اكتشاف كفاءة الرايزوبكتريا في خلق مقاومة جهازية في النبات في أوائل التسعينات . لقد ذكرت هذه المقاومة في أنواع مختلفة من النباتات ضد مجال عريض من الممرضات وتستحث المقاومة من خلال ميكانيكيات مختلفة . بعض سلالات الرايزوبكتريا تنبه ممر المقاومة المعتمد على حمض السلسليك والبعض الآخر يشجع ممر مستقل عن حمض السلسليك ولكن يتطلب استجابة كاملة لهورمونات النبات الجسمونات والاثيلين وليس للزيادة في إنتاج هذه الهومونات . لقد وجد أن كفاءة المقدرة على التعبير عنه ISR الناتجة بواسطة WCS 417 r تكون معتمدة على الطرز الوراثي للنبات . تم استحثاث المقاومة ISR عن طريق نقل البادرات ذات عن أسبوعين إلى تربة محتوية على البكتريا WCS 417 r بتركيز 10×5 وحدة تكون مستعمرات / جرام جذور . أما المقاومة SAR فقد استحثت عن طريق التشرب بالضغط بمعلق من الكائن الممرض الضعيف للسلالة avr Rpt2 من Pst بتركيز 10^8 وحدة تكوين مستعمرات لكل مليلتر في الورقتين السفلتين . يتم الحقن قبل الحقن بالكائن المتحدى بمدة أربعة أيام عندما تصبح النباتات بعمر خمسة أسابيع كانت تغمر الأوراق في معلق بكتيري من Pst بتركيز $10^8 \times 2,5$ وحدة تكوين مستعمرات / ملليمتر بعد 3 - 5 أيام تحسب الأعراض المرضية في النبات .

أظهرت دراسة تحديد موقع 1-ISR المتحكم في المقاومتين الأساسية و ISR الناتجة بواسطة بكتريا WCS 417 r ضد بسيدوموناس Pst أن حث هاتين المقاومتين ضد Pst كلاهما يكون وراثياً ومن الصفات السائدة أي المقدرة على استحداث هاتين المقاومتين تكون متوارثة على الجين الأحادي . لقد تم إلقاء الضوء عن مدى تأثير كل من الايكوتايب RLD , WS بالموقع 1-ISR وأتضح أن هذه الطرز تكون غير قادرة على أن تكمل بعضها البعض في التعبير عن ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst مؤكداً أن كلا الايكوتايب متأثراً بموقع 1-ISR . إن تدخل موقع 1-ISR في كلتا الحالتين المقاومة الجهازية المستحثة والمقاومة الأساسية ضد Pst أدت إلى الاقتراح بأن 1-ISR يشفر إلى مكون عام والذي يتدخل في استجابة المقاومتين .

كيف توقف النباتات المستحثة الكائنات الممرضة ؟

لقد سبق القول أن المقاومة المستحثة ضد الكائنات الممرضة يمكن أن تقسم إلى مجموعتين كبيرتين ، الأولى هي المقاومة الجهازية المكتسبة SAR التي تتكشف إما موضعياً أو جهازياً . استجابة للكائن الممرض الذي يسبب بقع متحللة (نكرزة) إما بسبب إصابة ناجحة أو تفاعل فرط الحساسية . هذه المقاومة تكون متوافقة مع إنتاج بروتينات متعلقة بالمرض أو تكون ناتجة عن عمليات معتمدة على وساطة حمض الساليسيك . النوع الثاني من المقاومة المستحثة تتكشف جهازياً استجابة لاستعمار جذور النبات بواسطة بعض أنواع بكتيريا الرايزوسفير ويطلق عليها الرايزوبكتريا المحفزة لنمو النبات PGPR وهي المقاومة الجهازية المستحثة ISR وقلنا أنها تكون ناتجة عن وساطة ممر حساس للثايلين أو حمض الجسميك ولا يتدخل في إظهارها بروتينات متعلقة بالمرض PR's . إن تفهم التنظيم الوراثي في كلا من SAR , ISR مهما في تحديد كيف تكون النباتات قادرة على نقل الإشارات المتولدة أثناء الإصابة والتي تؤدي إلى التعبير أو إظهار جينات الدفاع المفترض وجودها .

هناك سؤال مطروح عن المقاومة الجهازية المكتسبة SAR ألا وهو : كيف تشارك البروتينات المتعلقة بالمرض PRs مباشرة في مقاومة المرض وإذا حدث ذلك فإلى أي درجة هي تشارك في ذلك ؟ لقد خلص الباحث إلى وجود نظامين واضحين للميكانيكية التي يمكن للبروتينات المتعلقة بالمرض أن تلعبها في المقاومة الجهازية المكتسبة :

١- التوقف المباشر لتكشف الكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية عن طريق فعل التحلل المائي لجدر خلايا الكائن الممرض أو بواسطة نشاط تضاد ميكروبي آخر .

٢- النشاط الإنزيمي جلوكانيزيس والكييتيزيس التي يمكن أن تساعد بطريق غير مباشر في حدوث المقاومة عن طريق إطلاق منبهات غير متخصصة .

علاوة على التغيرات البيوكيميائية التي تحدث في النبات كنتيجة للمعاملة الحادة (أو المخلقة) للمقاومة فإن هناك استجابات معينة يجب أن يظهرها النبات أو تكون متوفرة عنده لكي يكون ظهور المقاومة الجهازية كاملاً . لقد وجد حدوث خفض للاختراق بواسطة الفطريات في نباتات الخيار التي يكون فيها التعبير عن المقاومة المستحثة للمرض للفطريات المهاجمة للورقة قد ثبت أنها متوافقة مع تحور سريع للبشرة الخارجية لجدار خلية العائل في النقطة التي منها يحاول الفطر الاختراق . لقد وجدت علاقة عكسية بين عدد الاختراقات الناجحة في نباتات الكونترول مع عدد الاختراقات غير الناجحة في النباتات المستحثة . لقد أدت دراسة كيمياء النسيج إلى الكشف عن كل من ترسبات اللجنين والسليلوز تحت أعضاء الالتصاق التي لم تنجح في الاختراق . كما ثبت أن جدر خلايا

البشرة الخارجية تكون متحورة تحت عضو الالتصاق وأن هذه التحورات تشمل مركبات فينولية وسليكون .

عن المقاومة المستحثة للكائنات الممرضة البكتيرية وجد أن تشريب أوراق الدخان بخلايا ميتة حرارياً من بكتريا الستونيا سولا ناسيزوم يمكن أن يحث مقاومة موضعية ضد نفس الكائن الممرض . لقد وجد أن الخلايا الميتة حرارياً يمكن أن تقي النسيج ضد تفاعل (استجابة) فرط الحساسية المنبه بواسطة عزلة غير شديدة المراضية من البكتريا المذكورة قبلاً . تكون المقاومة المستحثة مترافقة مع انخفاض نمو البكتريا الداخلة في تحصين النبات في النسيج المستحث وإنتاج مواد مثبطة . لقد ذكر أن هناك زيادة في مضادات الأكسدة تحدث جهازياً في الدخان كاستجابة للمقاومة المتخلقة وكاستجابة للمعاملة بحمض السلسليك وهذا التعبير في حالة مضادات الأكسدة قد اقترحت بأنها الأساس للتعبير عن بقعة النكرزة . مثبطات النمو البكتيري تتكون نتيجة لتخليق مقاومة أو لأن ذاك النبات يستجيب بسرعة للحقن عن طريق إنتاج مثبطات نمو بكتيري .

لقد ذكر Ross عام ١٩٦١ أن الحقن الموضعي لنباتات الدخان ذات الجين N بفيروس موزايك الدخان تؤدي إلى زيادة في المقاومة الجهازية والتي يعبر عنها بواسطة خفض في كل من حجم وعدد البقع المتحللة . لقد خلص إلى أن حالة المقاومة المستحثة تخفض تضاعف و / أو انتشار الفيروس . لقد ثبت أن الدفاعات الزائدة هي التي تعمل عن طريق تثبيط شدة الإصابة . كذلك وجد أن حمض السلسليك خلق ميكانيكيات تتدخل في التأثير على تضاعف الفيروس TMV في كل من نباتات الدخان من الطرز الوراثي ذات الجين N (ذات المقاومة للحساسية الفائقة) والنباتات ذات الجين (nn) القابلة للإصابة .

هناك تفسيرات كثيرة لسرعة استجابة النبات للمواد الحادثة أو الإصابات منها :

١- إن منتجات جين R في النبات تكون ضرورية للتعرف على منتجات جينات الكائن الممرض غير شديدة المراضية ، وهذا التعريف يؤدي إلى تفاعلات الدفاع سواء في المقاومة المستحثة أو المكتسبة .

٢- إن البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs ، تعمل على إطلاق منبهات غير متخصصة من جدر الخلية ، هذه المنبهات سريعاً ما تحدث دفاعات ضد الإصابات الفطرية أو البكتيرية ، تظهر هذه الدفاعات على شكل تكوين فينولات أو إفراز إنزيمات سريعاً ما تؤثر على الكائن الممرض . ولقد وجد أن هذه البروتينات يمكن أن تثبط التكشف الفطري أو البكتيري بشكل أكبر وأسرع منه في حالة استعمال بعض المبيدات الفطرية .

٣- إن الكائنات الممرضة التي تهاجم النبات (التي يحدث لها تثبيط) يمكن أن تطلق مثبرات تنبيه وسائل الدفاع في النبات ، سواء عن طريق الجينات أو الطفرات

الفسولوجية . لوحظ هذا النوع من الاستجابة فى فول الصويا ، حيث أن المعاملة المسبقة بمادة Metalaxyl تقى فول الصويا ضد الإصابة بالفطر *Phytophthora megasperma* var. *sojae* وأن جزءاً من هذه الوقاية يكون مترافقاً مع الإنتاج السريع لـ Glycollin فى منطقة الإصابة (من المحتمل أن يكون هذا راجعاً إلى إطلاق مثيرات من الكائن الممرض الضعيف بمادة Metalaxyl) .

٤- يمكن لأنسجة النبات أن تتكيف بحيث تستجيب سريعاً جداً للإصابة . وجد أن نباتات الخيار المعبرة عن SAR يحدث فيها لجنة لجدر الخلايا بسرعة أكثر كاستجابة للتجريح ، وأن هذه الزيادة فى اللجنة يمكن أن تكون منبهة مسبقاً بواسطة التجريح ، أو الجروح المخلقة بواسطة الاختراق الفطرى . هذه الزيادة فى القدرة على اللجنة يمكن أيضاً أن تساعد فى توضيح النقص فى الإصابة الفيروسية بعد الحقن الميكانيكى (تجريح) بالفيروسات .

٥- تنعكس سرعة استجابة النبات على سرعة ترسب الكالوس . وقد ذكر بأن هذه الحالة تكون متوافقة مع مقاومة المرض المستحثة فى الخيار ، وأن النباتات المظهرة أو المعبرة عن SAR ، تمتلك مستويات عالية من $B - 1 > 3$ glucan synthase والذي من الممكن أن يشارك فى البناء السريع للكالوس فى مناطق الإصابة .

٦- سرعة إنتاج المركب Hydrogen peroxidase . لقد وجد أن نباتات الخيار المعاملة بحمض السلسليك أو منشطات الوقاية والتي تشبه حمض السلسليك ، تستجيب بسرعة للإصابة عن طريق إنتاج هيدروجين بيروكسيد . إن مصدر هذا المركب غير معروف ، ولكن فى تجارب كثيرة وجد أن Apoplastic peroxidases يمكن أن يكون داخل فى المقاومة الجهازية المستحثة أو فى إنتاج Hydrogen peroxide .

المراجع

- Albouvette, C., Schippers, B., Lemanceau, P. and Bakker, P.A.H.M. 1998. Biological control of Fusarium wilts : towards development of commercial products. In : Plant-Microbe Interactions and Biological Control (G.J. Boland and L.D. Kuykendall, eds), pp. 15-36. Marcel Dekker, New York.
- De Boer, M., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. 1999. Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strains to enhance suppression of fusarium wilt of radish. Eur. J. plant Pathol. 105: 201-210. [PDF-file].

- Folders, J., Tomassen, J., Van Loon, L.C. and Bitter, W. 2000. Identification of a chitin-binding protein secreted by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 182: 1257-1263. [PDF-file].
- Glandorf, D.c.M., Verheggen, P., Jansen, T., Thomashow, L.S., Leeflang, P., Smit, E., Wernars, K., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 1999. Field release of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r to study effects on the indigenous soil microflora. In: Workshop Proceedings Leeuwenhorst Congress Centre Noordwijkerhout, the Netherlands, March 5-6, 1998, pp. 41-46. Coordination Commission Risk Assessment Rresearch (CCRO).
- Hammerschmidt, R., Metraux, J.P. and Van Loon, L.C. 2001. Inducing resistance: a summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases, Corfu, May 2000. *Dur. J. Plant Pathol.* 107: 1-6. [PDF-file].
- Knoester, M., Pieterse, C.M.J., Bol, J.F. and Van Loon, L.C. 1999. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signaling at the site of application. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 12: 720-727 [PDF-file].
- Pieterse, C.M.J. and Van Loon, L.C. 1999. Salicylic acid-independent plant defence pathways. *Trends Plant Sci.* 4: 52-58 [PDF-file].
- Pieterse, C.M.J., Van Pelt, J.A., Van Wees, S.C.M., ton, J., Leon-Kloosterziel, K.M., Keurentjes, J.J.P., Verhagen, B.W.M., Knoester, M., Van der Sluis, I., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 2001. rhizobacteria-mediated induced systemic resistance : triggering, signaling, and expression. *Eur. J. plant Pathol.* 107: 51-61. [PDF-file].
- Slusarenko, A.J., Fraser, R.S.S. and Van Loon, L.C. (eds.) 2000. Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 620 pp.
- Smit, E., Leeflang, P., Glandorf, B., Van Elsas, J.D. and Wernars, K. 1999. Analysis of fungal diversity in the wheat rhizosphere by sequencing of cloned PCR-amplified genes encoding 18S rRNE and temperature gradient gel electrophoresis. *Appl. Environm. Microbial.* 65: 2614-2621.
- Ton, J., Davison, S., Van Loon, LC. And Pieterse, C.M.J. 2001. Heritability of rhizobacteria-mediated induced systemic resistance and basal resistance in *Arabidopsis*. *Eur. J. plant Pathol.* 107: 63-68. [PDF-file].

- Ton, J., Peterse, C.M.J., and Van Loon, L.C. 1999. Identification of a locus in *Arabidopsis* controlling both the expression of rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) and basal resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 12: 911-918. [PDF-file].
- Van Loon, L.C. 1999. Occurrence and properties of plant pathogenesis-related proteins. In: *Pathogenesis-Related Proteins in Plants* (S.K. Datta and S. Muthukrishnan, eds), pp. 1-19, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Van Loon, L.C. 2000. Helping plants to defend themselves : biocontrol by disease-suppressing rhizobacteria. In : *Developments in Plant Genetics and Breeding, Vol. 6; Phytosfere 99, Highlights in European Plant Biotechnology Research and Technology Transfer* (G.E. de Vries and K. Metzlaff, eds), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 203-213.

الباب الثاني

المفاهيم الأساسية لدفاع النباتات ضد آكلات العشب الحشرية

أولاً : الدفاعات المباشرة في النباتات وتحفيزها بواسطة الجروح وآكلات العشب الحشرية

من مقالة للباحثين Gregg A. Howe and Andreas Schaller

عوامل المقاومة لدفاع النبات المباشر ضد الحشرات آكلة العشب تتضمن صفات نباتية تؤثر سلباً على تفضيل الحشرة (اختيار النبات العائل ، التبويض ، سلوك التغذية) أو الأداء (معدل النمو ، التطور ، نجاح التكاثر) مما يؤدي إلى زيادة لياقة النبات في البيئة المعادية . هذه الصفات تتضمن الصفات المورفولوجية لتحقيق الدفاع الطبيعي مثل الأشواك والنموات الشعرية وأفلام شمع الكيوتيكل السطحي وبلورات الشمع وخشونة النسيج وتراكيب الإفراز وقنوات الراتنج . هذه تشمل كذلك المركبات الضرورية للدفاع الكيميائي مثل نواتج التمثيل الثانوية وبروتينات الهضم الاختزالية والإنزيمات المضادة للتغذية . جميع هذه الصفات قد يعبر عنها تأسيسياً على أنها عوامل مقاومة سابقة التكوين أو تكون محفزة وتنتشر فقط بعد مهاجمة آكلات العشب الحشرية . تحفيز صفات الدفاع ليست قاصرة على موضع الهجوم ولكنها تمتد إلى الأجزاء النباتية السليمة غير المصابة . الطبيعة الجهازية لاستجابات النباتات لهجوم آكلات العشب تتطلب بالضرورة نظام إشاري طويل المدى قادر على خلق ونقل واستنتاج وتمييز إشارات التحذير التي تنتج على منطقة بين السطوح للنبات و آكل العشب . الكثير من البحوث عن حوادث الإشارات التي تدفع بواسطة آكلات العشب ركزت على نباتات الطماطم والعائلة الباذنجانية . في هذا النموذج فإن سيستيمين الببتيد يعمل عند أو بالقرب من موقع الجرح لتعظيم إنتاج حامض الجسميك . حمض الجسميك أو نواتج تمثيله تعمل كإشارات طويلة المدى متحركة في اللحاء وتحفز تعبير جينات الدفاع في الأجزاء البعيدة من النبات . في هذا المقام سنحاول إلقاء الضوء عن خصائص الدفاع الطبيعية والكيميائية واستعراض ميكانيكيات التأشير المسؤولة عن تعبير التحفيز بعد هجوم الحشرات .

A. Challer

University of Hohenheim , Institute of Plant Physiology and Biotechnology , -
70599 Stuttgart , Germany .

e-mail : Schaller@uni-hohenheim.de

A. Schaller (ed.), Induced Plant Resistance to Herbivory , © Springer Science
+ Business Media B.V. 2008 .

١ - مقدمة

النباتات خاصة النباتات المزهرة ذات تنوع كبير فى الحجم والشكل يتراوح من ملليمترات قليلة في مخالب البط الدقيقة وحتى ١٠٠ متر فى أشجار الكافور العملاقة . البعض قد يكمل حياته فى أسابيع قليلة والأخرى تعيش آلاف السنين . التنوع المدهش ينتج من التكيف للبيئات المختلفة المعادية وكمثال النشوء المبكر للنباتات الأرضية . استعمار الأرض بواسطة النباتات يرجع لحوالى ٤٨٠ مليون سنة تبعاً لسجلات الحفريات والتي تعتبر علامات عن بدء قصة نجاح النشوء مع النباتات المزهرة التى تحتل الآن جميع أماكن المعيشة على سطح الكرة الأرضية فيما عدا المناطق المحيطة بالقطبية وقمم الجبال الأعلى والمحيطات العميقة . استعمار الأرض كان الحادثة الكبرى فى تاريخ حياة النبات وفى نفس الوقت مهدت الطريق لحدوث النشوء الفطير للنظم البيئية الأرضية . بالرغم من قابلية النباتات ككائنات لا عنقية للتأثير بالظروف المعاكسة الحيوية واللا حيوية فإنها فى الواقع تسود على غالبية سطح الأرض . هذا النجاح الواضح للنباتات المزهرة يعتمد ويتوقف على المقدرة على الثبات فى البيئات غير الملائمة والمتباينة عن طريق نظم مقاومة فعالة تعتمد على خليط من الخصائص الطبيعية والكيميائية والتطورية . لقد تم الاستقراء بواسطة الباحث Stahl عام ١٩٨٨ أن التنوع العظيم الكبير فى الوسائل الميكانيكية والكيميائية لحماية النباتات قد اكتسبت من جراء كفاحها للوجود فى داخل عالم الحيوان مما أدى إلى الخلاصة بأن عالم الحيوان [....] يؤثر بعمق ليس فقط على الشكل الظاهري أو المورفولوجي ولكن على كيميائيتها . ليس فقط على الأشواك والشعيرات كصفات مورفولوجية للمقاومة ولكنها تشمل الأصناف المذهلة من الكيمائيات الثانوية النباتية التى تشهد على الضغط الانتخابي الذى يحدث بواسطة الحيوانات آكلة النباتات .

لقد اكتشف بعد ذلك أن التعبير المحفز عن خصائص المقاومة تزيد من لياقة النبات فى البيئات التى تأوى وتستوطن العديد من الطفيليات النباتية . تحفيز المقاومة النباتية سجلت فى البداية مع الممرضات الفطرية والبكتيرية فى بداية التسعينات وبعد ذلك أتضح أن الدفاع المحفز يوجد كذلك ضد آكلات العشب الحشرية . فى الورقة العلمية التى نشرت عام ١٩٧٢ أوضح الباحثان Green and Rayan أن نباتات الطماطم والبطاطس تراكم مثبطات التربسين والكموتربسين التى تشبه السيرين بروتينيزيس خلال أنسجتها الهوائية كمتابع مباشر للتلف الذى تحدثه الحشرات أو الجروح الميكانيكية . مثبطات البروتينيز توجد تركيبياً فى تركيزات عالية فى أعضاء التخزين النباتية ويمكن أن تعمل كوسائل حماية ضد الحشرات . لقد اقترح هذان الباحثان أن تعبير مثبطات البروتينيز قد ينظم فى الأوراق لجعل النبات أقل استساغة وربما يكون قاتلاً للحشرات الغازية . تراكم مثبطات البروتينيز فى الأنسجة الهوائية اقترح أن يمثل نظام دفاع تحفيزى حيث يؤثر مباشرة على أداء الحشرات المستهلكة للأوراق النباتية عن طريق تجويعها عن المغذيات مما يؤدي إلى تحفيز المقاومة النباتية ضد آكلات العشب . الآن أصبح واضحاً أن الجودة الغذائية

للمجموع الخضرى من العوامل المحددة الهامة لنمو وتطور آكل العشب والدفاع من جراء التضاد الغذائى كجزء من الخرسانة النباتية لتحفيز المقاومة لاقى القبول .

على امتداد ٣٥ عاماً من البحوث بعد الاكتشاف الأولى بواسطة Rayam ومعاونوه ثم وضع أساس المقاومة النباتية ضد الحشرات آكلة العشب كعملية ذات ديناميكية عالية . بالإضافة إلى مثبطات البروتينيز تم تعريف الكثير من عوامل التحفيز والتي تساهم فى الدفاع المباشر والتي تلعب دوراً كبيراً فى تحفيز لياقة النبات العائل بعد هجوم آكل العشب . هذه هى النواحي التي سوف نتناولها فى هذا المقام لتوضيح الأرضية أو الخلفية لعمل مناقشة تفصيلية عن الدور الدفاعى للبروتينات الفردية فى النبات . من النواحي الأخرى للمقاومة المحفزة التي حفزت وشجعت الباحثين بعد نشر بحث جرين ورديان هى الطبيعة الجهازى للاستجابة حيث أن بروتينات الدفاع لا تتراكم فقط عند موضع الجرح ولكنها توجد جهازياً فى الأنسجة غير المجروحة للنباتات المصابة . من الواضح أن الإشارة يجب أن تخلق محلياً كتنابع لتغذية الحشرة والتي تتضاعف عندئذ خلال النبات وتصبح قادرة على تحفيز تعبير بروتينات الدفاع فى المواضع البعيدة .

٢- عوامل المقاومة المحفزة للدفاع المباشر

منذ الملاحظة الابتدائية عن تراكم مثبطات البروتينيز فى نباتات الطماطم والبطاطس المجروحة فإن التحفيز بواسطة آكلات العشب ظهر مع عدد كبير من عوامل المقاومة المؤثرة الأخرى . فى ضوء الدراسات الحديثة التى تحلل استجابات التحفيز عند مستوى النسخ الكامل السليم بدناً فى الامتتان للعرض الكامل والطبيعة الديناميكية العالية للتداخلات بين النبات والحشرة . لقد أظهرت العديد من الدراسات أن آكل العشب يسبب تغيرات كبيرة المستوى فى التعبير الجينى . كمثال فقد تم تقدير أن ١١% من النسخ Transcriptome تنظم بشكل متفاوت بواسطة تغذية الحشرة . هذا بينما أن تحفيز بعض الجينات أو الإنزيمات كل على حدة ليس دليل كافى للوظيفة فى دفاع النبات . هذا ولو أن الإسهام المؤثر فى صفة ما على المقاومة النباتية يمكن أن تختبر فى المعمل عن طريق مقارنة تفضيل آكل العشب و / أو الأداء على النباتات التى تختلف فى الصفة محل الاهتمام ، الدور فى دفاع النبات الذى يتضمن أن التعبير عن صفة المقاومة ترتبط بالكسب فى اللياقة النباتية وهذه الارتباطات يجب أن تظهر فى التجارب الحقلية التى تحاكي الظروف الحقيقية أو الواقعية على مستوى العالم .

هناك مطلب إضافى لنشوء نظم الدفاع المحفزة يتمثل فى التباين الوراثى فى درجة التحفيز . لقد لوحظ التباين الوراثى بشكل متكرر فى المجاميع الطبيعية كما فى المقاومة الطبيعية (كثافة الشعيرات) أو المقاومة الكيميائية (محتوى الجلوكوسينوليت) فى نبات Arabidopsis وكلا الصفتان يرتبطتا مع تكاليف اللياقة بالنسبة لصفات المقاومة المحفزة مع أنه تأكدت فائدة اللياقة فى قليل من الحالات فقط . من أحد الأمثلة نباتات الفجل التى تم

تحفيزها كى تراكم مستويات عالية من الجلوكوسينولات ولإنتاج الشعيرات بكثافة زائدة . بالمقارنة مع النباتات العادية فإن هذه النباتات المحفزة تظهر الصفتان المقاومة الزائدة لأكل العشب وزيادة كتلة البذور (ارتباط اللياقة طوال فترة الحياة) . لقد أكدت التجربة دور مباشر للشعيرات (الترايكومات) والجلوكوسينولات كعوامل مقاومة طبيعية وكيميائية على التوالي . على نفس المنوال فإنه فى نبات نيكوتينيا أثينيواتا فإن الإنتاج المحفز للنيكوتين كعامل مقاومة كيميائي كان مرتبطاً بتكاليف التمثيل ولكنه قدم فائدة لياقة عندما كانت النباتات تحت هجوم آكلات العشب . ولو أن هذه الموجودات لا يمكن تعميمها كما أن الدور الدفاعي لا يمكن افتراضه مع جميع استجابات النبات للجروح وهجوم آكلات العشب فإن سيادة المقاومة المحفزة وصفاتها توجد على النظم بين النبات وأكل العشب تفيد بأن مثل هذه الاستجابات تكون نتيجة للانتخاب الطبيعي الذى يتحقق بواسطة آكلات العشب الحشرية خلال النشوء .

أى صفة نباتية تتداخل مع اختيار النبات العائل أو التبويض أو تغذية أى أكل عشب حشري يعتبر عامل مقاومة مؤثر وقد يساهم إضافياً إلى دفاع النبات . من بين هذه الصفات الأكثر شدة الصفات المورفولوجية والتركيب الكيميائي للنبات والاثنين عرفا على أنهما من الخصائص التكوينية للمقاومة وكانا من الأهداف التى ركزت عليها الدراسات الابتدائية عن المقاومة المحفزة ضد آكلات العشب الحشرية . فى هذا المقام سوف نركز على استعراض عوامل التحفيز التى تؤدي إلى تحفيز المقاومة من خلال التأثيرات المباشرة على التفضيل والأداء فى الحشرة . التمييز التقليدي بين خصائص الدفاع النباتي الذى قد يكون مورفولوجي أو كيميائي سوف يستخدم من هذا المقام كما فى الجدول (١-٢) .

جدول (١-٢) : تقسيم الصفات أو الخصائص الدفاعية . عوامل المقاومة يمكن أن توضع فى مراتب الطبيعية (مثل الخصائص المورفولوجية والتركيبية للنبات) أو بيوكيميائية (مثل نواتج التمثيل السامة أو المضادة للتغذية والبروتينات) أو الايكولوجية (مثل الأنواع الأخرى) . تختلف هذه المراتب بالنظر لكيفية إحداثها للتعبير (تكوينية أو تحضيرية) والفعل (فى دفاع مباشر أو غير مباشر)

نوع الصفة	كيفية التعبير	كيفية إحداث الفعل
• طبيعية	تكوينية	دفاع مباشر
		(مضادات أكسدة - تحمل - التضاد)
• بيوكيميائية	محفزة	دفاع غير مباشر

• إيكولوجية	(تداخلات ثلاثية السلسلة الغذائية)
-------------	-----------------------------------

من الأهمية التمييز بأن هذا التقسيم هو فى الغالب اعتباطى لأن أى صفة مورفولوجية ما هى إلا صفة ترجع إلى عملية بيوكيميائية منظمة وراثياً ومن ثم تكون كيميائية أيضاً فى الأساس .

٢-١- الصفات المورفولوجية للدفاع الكيميائى

آكلات العشب الحشرية من جميع مراتب التغذية يجب أن تتلامس مع سطح النبات كى تثبت نفسها على العائل النباتى . لذلك لا يثير الدهشة أن الصفات الطبيعية والكيميائية لسطح النبات محدّدات هامة للمقاومة . أفلام شمع الجليد السطحى والبللورات التى تغطى كيويتيكل معظم النباتات الوعائية بالإضافة للدور الهام الذى تقوم به لتحمل التجفيف فإنها تزيد كذلك من الانزلاق الذى يعيق مقدرة العديد من الحشرات غير المتخصصة لاستيطان سطوح الأوراق . الخصائص الطبيعية لطبقة الشمع وكذلك تركيبة الكيميائى من العوامل الهامة للمقاومة المسبقة . هذا ولو أن التغيرات المحفزة فى إنتاج الشمع وكيمياء السطح لوحظت كما أن الدليل عن دور شمع الكيويتيكل والكيوتيكل السطحى فى المقاومة المحفزة مازال نادراً . التخليق الحيوى للشمع والتركيب معروف أنه يختلف خلال تطور النبات والصفات الطبيعية والكيميائية للكيوتيكل تستجيب للتغيرات فى الموسم والحرارة . إذا أخذ فى الاعتبار براعة النباتات فى التعامل مع أعدائها يكون من الدهشة إذا كان تنظيم إنتاج الشمع على سطح الورقة لم يسخر للتأثير على مخرجات التداخلات بين النبات والحشرة .

من المكونات الأخرى على سطح النبات التى تلعب دوراً فى الدفاع التكوينى الأشواك والشعيرات التى تعمل مباشرة ضد آكلات الأعشاب من الثدييات والترايكومات الفعالة ضد الحشرات . الشعيرات غير الغدية قد تعمل كمعامل مقاومة تركيبية حيث تمنع الحشرات الصغيرة من ملامسة سطح الورقة أو تحد من حركتها . عوامل المقاومة المورفولوجية والكيميائية تندمج فى الترايكومات الغدية . الغدد تنتج مواد تقوم بطرد آكلات العشب الحشرية أو تطردها من التغذية (Antixenosis) أو تمنع حركتها على سطح الورقة . من المثير للاهتمام أن كثافة الشعيرات فى بعض الأنواع النباتية تزداد استجابة لتغذية الحشرة ومن ثم تكون مقاومة محفزة الدور الدفاعى للترايكومات نوقش بالتفصيل بواسطة Dalin et al.

خشونة الورقة Leaf roughness عامل طبيعى هام لتحقيق المقاومة النباتية حيث أنه يؤثر على نفاذية أنسجة النبات بواسطة أجزاء الفم الثاقبة الماصة للحشرات كما تزيد من الإرهاق الفكى لآكلات العشب ذات أجزاء الفم القارض الماضغ . خشونة الورقة ترتبط بشكل متكرر بمقاومة الحشرة وهى معيار جيد للتنبؤ بمعدلات آكلات العشب . ولو أن خشونة الورقة ينظر إليها تقليدياً على أنها خاصية طبيعية فإن هذه الصفة تمثل

الصعوبة العامة في رسم تمييز واضح بين عوامل المقاومة الطبيعية والكيميائية . إعادة تعصيد جدار الخلية لتحفيز خشونة الورقة ينتج من ترسيب كيميائيات تتضمن جزئيات كبرى مثل اللجنين والسليلوز والسوبرين والكالوز وجزئيات عضوية صغيرة (مثل الفينولات) وحتى جسيمات السليكا غير العضوية . التخليق المحفز و / أو ترسيب هذه الكيميائية بعد الجرح يؤدي إلى حدوث مقاومة طبيعية محفزة .

من وسائل الدفاع التشريحية التي وجدت في النباتات ذات الأصل عديدى الجينات المتفرعة تلك التي تتمثل في شبكة من القنوات مثل القنوات اللبنية Laticifers (الخلايا الحية المحتوية على العصارة اللبنية (اللاتكس) أو قنوات الراتنج (الفراغات بين الخلايا المملوءة بالراتنج) التي تخزن اللاتكس أو الراتنجات تحت ضغط داخلي . عندما يشذ نظام القناة فإن المحتويات تصبح ناضجة وتترى وقد تقوم باصطياد أو تصبح سم لآكل العشب . بعيداً عن أكثر من ٥٠ عائلة نباتية فإن حشائش اللبن (الجنس Asclepias في العائلة Asclepiadacea) قد تكون أحد الأمثلة . العصارة اللبنية لحشيشة اللبن تتجلط بمجرد التعرض للهواء وتوقف حركة يرقات الحشرات الصغيرة . كعامل إضافي للمقاومة الكيميائية فإن السائل اللبنى " لاتكس " قد يحتوى كميات كبيرة من الكاردينوليدات السامة . من المثير للدهشة أن العديد من آكلات العشب الخاصة التي تتغذى على حشيشة اللبن أو غيرها من النباتات التي تنتج السائل اللبنى تستخدم استراتيجيات تغذية توقف انسياب اللاتكس إلى مواضع التغذية المستهدفة . سلوك التغذية هذا يعمل باستقلالية في العديد من النظم الوراثية عديدة الجينات ويمكن النظر إليها على أنها تكيف آكلات العشب لنظم الدفاع النباتية التي تعتمد على اللاتكس .

من الصور واسعة الانتشار والمستقرة من الحماية التشريحية هي الدفاعات المبنية على الراتنجات في أشجار الصنوبر . الراتنج وهو مخلوط من التربينات الأحادية والسيكوي تربينات وأحماض الراتنج ثنائية التربينات تتراكم في قنوات الراتنج والتراكيب الإفرازية المرتبطة . الخنافس التي تحفر السوق وغيرها من الحشرات التي تكسر نظام قناة الراتنج تطرد من الثقوب بواسطة انسياب الراتنج . بمجرد التعرض للهواء فإن الجزء على التطاير من التربينات الأحادية يتبخر ويترك الحشرات مصطادة في أحماض الراتنج التي تصلبت ويقل مكان الجرح . ولو أن نظام الدفاع المعقد المعتمد على الراتنج فى أشجار الصنوبر يكون مسبقاً فإنه يحفز لاحقاً استجابة لحدوث الجروح . من بين مكونات تحفيز النظام التخليق الحيوى للتربين .

في النهاية فإن عملية شفاء أو اندمال الجروح نفسها يمكن أن تعتبر كصفة تشريحية تحفز بالجروح لتحفيز حدوث المقاومة . الغلق الفعال للجرح ذات أهمية فى منع فقد الماء وفرص العدوى بالمرضات البكتيرية والفطرية عند موضع تلف النسيج . قفل الجرح قد يتضمن انقسام خلوى مكثف وتكوين كاللاس الجرح . فى حالة النباتات ذات نظم الدفاع

التي تعتمد على الراتنج والعصارة اللبنة اللاتكس فإن تجلط الإخراجات قد يسد موقع الجرح بكفاءة من الأكثر عمومية تكون طبقة سد من الخلايا بواسطة انتشار مواد مضادة للميكروبات وغير منفذة للماء بما فيها اللجنين والسوبرين . هذا قد يكون متبوعاً بواسطة تحفيز الانقسام الخلوي وتكوين البشرة السطحية " البريدرم " كنسيج واقى يكون غير منفذ للماء ويقاوم الممرضات . تكوين بشرة الجرح وإسهامها المؤثر فى الدفاع النباتى نوقشت وسوف نناقش بالتفصيل فى موضع لاحق من هذا الكتاب .

٢-٢ - نواتج التمثيل والإنزيمات المرتبطة بالدفاع الكيميائى

الكيميائيات النباتية التي تلعب دوراً فى الدفاع المباشر تتلف أداء آكلات العشب بواحد من الميكانيكيتين العامتين : هذه الكيميائيات قد تخفض القيمة الغذائية للغذاء النباتى أو قد تعمل كمواد طاردة أو نافعة للتغذية أو توكسينات . يوجد جدل كبير عن أى من هذه الاستراتيجيتان أكثر أهمية اختيار العائل النباتى ومقاومة الحشرات . جزء هام من هذا الجدل يتعلق بالدرجة التي يتضمنها التباين فى نواتج التمثيل الأولية والثانوية كوسيلة دفاع فى النبات . التمثيل الأولى النباتى الذى يتقاسم مع الحشرات والكائنات الحية الأخرى تقدم وتوفر الكربوهيدرات والأحماض الأمينية والليبيدات كمغذيات ضرورية للحشرات . جودة الغذاء تحدد بشكل كبير بواسطة تيسر هذه المغذيات وأهميتها للدوام والحجم ومعدلات الخصوبة والموت فى الحشرات آكلة العشب وقد تم تمييز هذه العلاقات مبكراً بواسطة Painter ، ١٩٣٦ . بالإضافة إلى ذلك فإنه تم تعريف ما يزيد عن ١٠٠٠٠٠ مركب نباتى (مثل نواتج التمثيل الثانوية Secondary metabolites) دون تحديد دور واضح فى التمثيل الأولى والعديد من هذه المركبات اعتبرت نواتج تمثيل مستهلكة ضائعة . بينما العديد من نواتج التمثيل الثانوية فى الحقيقة تستهلك للتمثيل الأولى والآن هناك قبول عريض أنها تؤدي وظائف إيكولوجية هامة فى التداخل النباتات مع البيئة الحيوية واللا حيوية .

تبعاً للنموذج الذى وضع بعداً بواسطة Fraenkel فى الورقة الرائدة التى نشرت عام ١٩٥٩ فإن نواتج التمثيل الثانوية فى نوع نباتى معين قد تعمل كمواد طاردة للحشرات العامة (عديدة العوائل Polyphagous) وجاذبات للحشرات الخاصة (وحيدة العائل أو Monophagous) ومن ثم تكون مسئولة لحد كبير عن مدى التقييد العائلى . بالإضافة إلى هذه الوظائف الأليلوكيميائية فإن نواتج التمثيل الثانوية تعمل كذلك فى مسارات متعددة كتوكسينات ومانعات للتغذية ومخفضات للهضم ومضادات للتغذية وكبادئات للدفاع الطبيعى وكمواد متطايرة فى الدفاع غير المباشر . بالرغم من تنوعها فى التركيب والفاعلية والتوزيع فى المملكة النباتية فإن جميع المركبات الثانوية تشتق من مواد بسيطة عالمية للتمثيل الأولى بما فيها فوسفات السكر (ايرسروز -٤- فوسفات) والمرافق الإنزيمى أسيتايل - A والأحماض الأمينية وهى تقسم بشكل مناسب تبعاً لمسارات التخليق

الحيوى لها كموا د فينولية وتربينويدية والكالويدية . كل من أقسام المركبات هذه ودورها فى المقاومة المحفزة ستكون هى محور الأبواب اللاحقة من هذا الكتاب . بينما ظلت أهمية نواتج التمثيل الثانوية (مثل التانينات والفينولات) خارج المناقشة لعقود بعد ورقة فرانكيل المتميزة فإن الاعتراف بأن بعض نواتج التمثيل هذه تعمل كمضادة لنشاط التغذية لفتت أنظار الكثيرين بفكرة أن جودة الغذاء والقيمة الغذائية والتباين فى التمثيل الأولى قد تشترك فى دفاع النبات . الارتباط الوثيق بين جودة الغذاء وصفة المقاومة تم تعضيدها لاحقاً بواسطة Ryan ومعاونوه الذين أوضحوا أن التعبير المحفز لمثبطات سيرين بروتينيز تساهم فى دفاع النبات من خلال التداخل مع عمليات الهضم فى الحشرات ومن ثم تحد من تيسر الأحماض الأمينية الضرورية .

بعد الدراسة المتميزة للباحثان Green and Ryan أشار العديد من البحا ث أن التركيب الكيميائى الشامل للنبات يتأثر بشكل كبير بواسطة المعايير التطورية والبيئة بما فيها أكل العشب نفسه . التغيرات المحفزة فى كيمياء النبات تتضمن التخليق الحيوى لأنواع عريضة من الممثلة الثانوية مثل الفينولات والتربينويدات والالكالويدز والجلوكوسيدات السيانوجينية والجلوكوسينولات . لقد أتضح بعد ذلك أن تحفيز البروتينات المضادة للتغذية ليست محددة على مثبطات سيرين بروتينيز ولكنها تتضمن مثبطات أقسام أخرى من البروتينيز والإنزيمات التأكسدية .

٢-٣ - إعادة ترتيب التمثيل للانتقال من حالة النمو إلى الدفاع الموجه

Metabolic Reconfiguration to Shift from a Growth to a Defense - Oriented State

التغيرات التشريحية والكيميائية الوفيرة المرتبطة بالمقاومة المحفزة تتطلب إعادة برمجة التعبير الجينى . لغرض التحليل الكمى للتغيرات على المدى الواسع فى التعبير الجينى تم تطوير طرق جديدة فى السنوات الحديثة . من أكثر الاقترا بات وضوحاً هى تكنولوجيا الترتيب الدقيق Microarray لتعريف النسخ متباينة التعبير وحديثاً أكثر طرق تحليل Proteomic Analysis على الأداء . مع اكتشاف هذه الطرق أصبح فى الإمكان الآن الحصول على حسابات غير متميزة عن استجابة النبات لآكل العشب . العديد من الجينات المطلوبة للتعبير عن صفات المقاومة المعروفة ظهرت فى الحقيقة أنها عالية التنظيم خلال التداخل بين النبات والحشرة . اتساقاً وتناغماً مع تنشيط الدفاعات المرتبطة بالتركي ب فإن جينات تمثيل الفينيل بروبانويد العامة والتخليق الحيوى للمونوليغنول وبلمرة اللجنين وتقوية جدار الخلية يتم تحفيزها بواسطة الجروح أو أكل العشب فى هجين شجرة الحور . على نفس المنوال فإن تنشيط الدفاعات الكيميائية تكون مصحوبة بواسطة تحفيز الجينات المشتركة فى التمثيل الثانوى بما فيها الفينولات والامينات العديدة والتخليق الحيوى للالكالويدز فى N. attenuate والجينات لتكوين الفينولات والتربينات فى أشجار

الراتنجية والهور وتمثيل الفينولات والتخليق الحيوى للجلوكوسينولات فى نباتات الأرابيدوسز . أكدت هذه الدراسات كذلك تنشيط الجينات المرتبطة بتضاد الهضم ودفاعات تضاد التغذية (مثل مثبطات البروتينيز ، إنزيمات الأكسدة ، اللكتينات) ولتشفير استجابة المقاومة (مثل التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك والاثيلين وعوامل النسخ) . هذا يجدر ملاحظة أن هذه الجينات تمثل فقط جزء من التغيرات الكلية التى تحفز بالجروح فى نشاط الجين . النسخ استجابة للحشرة قدر بحوالى ١٠% من جميع النسخ مما أدى إلى الاقتراح بأن إعادة البرمجة المكثفة للتعبير الجينى مطلوبة لعمل تحول من التمثيل الموجه لنمو النبات إلى التمثيل الموجه للدفاع . الحالة الأخيرة تتضمن تنشيط الجينات لاستجابات الإجهاد العامة (إجهادات الأكسدة - إجهادات فقد الماء - بروتينات صدمة الحرارة) دورة البروتين (مثل بروتينيزيس) وعمليات النقل (مثل اكرابورنيز ، بروتينات نقل الليبيد وناقلات ABC وناقلات السكر والبيتيه وكذلك تعديل التمثيل الأولى (تمثيل الكربوهيدرات والليبيد ، تمثيل النتروجين) وتنظيم البناء الضوئى ووظيفة أو عمل الكلوروبلاست . هذه التغيرات فى التعبير الجينى قد تعكس إعادة تحفيز المصادر من العمليات الأولية لآكل العشب إلى الدفاع.

الحركة الفعالة للمصادر النباتية تميل إلى تسهيل تعبير صفات المقاومة القيمة بما فيها تراكم بروتينات الدفاع وتخليق نواتج التمثيل الثانوية وتكوين وسائل الدفاع التركيبية . من جهة أخرى فإن حركة المصادر قد تساهم كذلك فى تحمل النبات لهجوم آكل العشب . خلافاً لما فى المقاومة فإن التحمل لا يؤثر على تفضيل وأداء آكل العشب ولكنه يسمح للنبات العائل لتقليل أو تحجيم تتابعات اللياقة لفقد النسيج . التحمل والمقاومة ينظر لهما كاستراتيجيات بديلة ومكملة لدفاع النبات ضد آكلات العشب الحشرية . هذا بينما التحمل مازال غير كامل الفهم على المستوى الجزيئى فإنه قد يتضمن حركة كربون ونتروجين الورقة الذى حدث لها ضرر بواسطة آكل العشب والتخزين المؤقت لهذه المصادر لإعادة النمو اللاحق . تحفيز دورة البروتين وتمثيل الليبيد والكربوهيدرات ووظائف النقل التى لوحظت فى دراسات الترتيب الدقيق (كما ذكر سابقاً) قد تكون وثيقة الصلة وبنفس القدر لكلا التحمل والتعبير المحفز لصفات المقاومة . التخزين المؤقت للمصادر يحدث فى الأعضاء الأقل حساسية لآكل العشب ، مثل نظام الجذر . فى الحقيقة فإن التغير فى علاقات الاختراق - المصدر لوحظت فى *N. attenuate* بعد محاكاة هجوم آكل العشب مما يؤدى إلى زيادة وضع السكريات للجذور وتحفيز التحمل . على نفس المنوال فإن تحفيز بروتينات التخزين الخضرية لوحظت تكرارياً استجابة للجروح بما يسمح للنبات لتنظيم المصادر المتحركة للاستخدام فى إعادة النمو . من الواضح أن هذا الدور كتخزين مؤقت أو التخزين المؤقت للبروتين قد اقترح فعلاً للمثبط I للبروتينيز فى نباتات الطماطم والبطاطس حيث وجد أن البروتين الأول يحفز جهازياً بواسطة آكل العشب .

٣- التأشير الجهازى للدفاع المباشر المحفز

من الملامح الهامة للعديد من الاستجابات الدفاعية المباشرة المحفزة بالجرح حدوثها فى الأنسجة غير النافذة التى تقع بعيداً عن موضع الجرح . مثبطات سيرين بروتينيز المحفزة بالجروح (PIS) تمثل واحداً من أفضل الأمثلة للاستجابة الدفاعية المحفزة جهازياً . فى نباتات الطماطم فإن جينات PI يعبر عنها فى الأوراق البعيدة خلال ١ - ٢ ساعة من هجوم الحشرة أو حدوث الجرح الميكانيكى . الطبيعة الجهازية والسريعة لهذه الاستجابة تكون مرادفة لاستجابة المناعة فى الفقاريات والتى يحدث فيها إرسال الإشارات الصماء Endocrine signals للأنسجة المستهدفة عبر الجهاز الدورى . هذا وبسبب أن النباتات تعاني من نقص الخلايا الدفاعية المتحركة فإن الإشارات الجهازية يجب أن تنتقل لمسافات طويلة عبر الميكانيكيات الخاصة بالنباتات .

الحدوث العريض لاستجابات الدفاع الجهازية فى المملكة النباتية تشير إلى وجود ميكانيكيات شائعة لخلق ونقل وإصدار إشارات تحذير عند موضع تلف النسيج . مثبطات سيرين بروتينيز المحفزة بالجروح فى الطماطم وغيرها من نباتات العائلة الباذنجانية استخدمت على نطاق واسع كنموذج لدراسة الميكانيكية الجزيئية للتأشير الجهازى للجرح . لقد أشار الباحثان جرين وريان (١٩٧٢) أن الإشارات الكيميائية التى تنتج عند موقع الجرح تسافر خلال النبات وتنشط تعبير PI فى الأوراق غير النافذة . تعريف هذه المركبات الإشارية تم اجراؤه بسهولة بالتقييم الحيوى البسيط الذى فيه تزود بإدرات الطماطم بمحاليل الاختبار (مثل تلك التى تحتوى على منبه أو محفز) خلال الساق المقطوع ويتبع ذلك قياس تراكم PI فى الأوراق . الاستخدام المكثف لهذا التحليل أدى إلى اكتشاف أقسام مميزة عريضة من المركبات المحفزة لإنزيم PI بما فيها الأوليجوجلاكتيرينودز (OGAs) المشتقة من الجدار الخلوى والسيستمين وحمض الجاسمونيك (JA) وفوق أكسيد الأيدروجين . الإشارات الطبيعية (مثل القوى الهيدروليكية والإشارات الكهربائية) التى تتولد بواسطة تلف النسيج وجدت متضمنة فى عملية التأشير الجهازية . فى الوقت الراهن يوجد تحدى كبير يتمثل فى تحديد كيف أن هذه الإشارات المتنوعة تتداخل أحدها مع الأخرى لتحفيز الاتصال بين الخلوى عبر المسافات الطويلة.

لقد وضع (Farmer and Ryan 1992) النموذج الجارى الذى يشير إلى أن الإشارات خارج الخلايا مثل OGAs , Systemin (يطلق عليها الإشارات الأولية للجروح) تنشأ استجابة للجروح وتوجه الإنتاج بين الخلوى لحمض الجاسمونيك خلال مسار الأوكتاديكانويد وأن حمض الجاسمونيك فى المقابل ينشط تعبير جينات الدفاع . إنتاج

OGAs المحفز بالجروح يحفز بواسطة عائلة بولى جالاكتورونيزيس (PGs) الذى يعبر عنه فى مختلف الأنسجة النباتية . OGA's غير متحركة نسبياً فى الجهاز الوعائى النباتى ويعتقد أنها تعمل كوسائط محلية . هذا وبسبب أن نشاط PG يحفز جهازياً استجابة للجروح فإن OGAs تقوم كذلك بتكبير استجابات الدفاع فى الأوراق غير المضارة . انتقال الإشارات المعالة بالـ OGAs قد تنتج من التأثيرات الطبيعية المباشرة لهذه المركبات على غشاء البلازما أو قد تتضمن مستقبلات خاصة Specific receptors .

لقد كان مركب سيسستيمين Systamin أول الببتيدات الحيوية التى اكتشفت . الببتيد الذى يحتوى على ١٨ حمض أمينى اشتق من الانقسام بواسطة التحلل المائى لبروتين بادية كبير وهو السيستين الأولى Prosystemin . عندما استخدمت فى التقييم الحيوى لبادرات الطماطم كان السيستن أكثر نشاطاً بمقدار يزيد عن ١٠٠٠٠ مرة عن OGAs فى تحفيز تعبير PI . لقد أوضحت العديد من خطوط الأدلة أن السيستين يقوم بدور فاع فى استجابات الدفاع المحفزة فى الطماطم . كمثال فإن النباتات المتحولة وراثياً التى تعبر عن مضاد الحساسية (Prosys) Prosystemin للحمض النووى cDNA تكون ناقصة فى التعبير الجهازى المحفز بالجروح للـ PI's ومن ثم يستتبع ذلك أن يكون أكثر حساسية لآكلات العشب الحشرية . التعبير الفائق للسيستيمين الأولى من الجين المتحول : 35 S Prosys ينشط تعبير PI فى غياب الجروح ومن ثم يشار إليه كمقاومة محفزة لآكلات العشب . أظهر التحليل الوراثةى اللاحق أن الجينات المطلوبة للتأثير المعال بالسيستيمين ضرورى للتعبير عن PI المحفز بالجروح وغيرها من جينات الدفاع المرتبطة الأخرى . لذلك فإن الجروح والسيستيمين تنشط الجينات من خلال مسار تأثير شائع .

تنشيط جينات الدفاع بالنسخ استجابة للسيستيمين تتطلب التخليق الحيوى والفعل المتتابع لحمض الجسمونيك . مسار تأثير السيستيمين يبدأ بمجرد ارتباط الببتيد لمستقبل الارتباط على غشاء البلازما (SR160) 16-KDa التى تم تعريفها بمستقبل التكرار الغنى بالليوسين (LRR) الشبيه بعائلة الكينيز للبروتينات . ارتباط السيستيمين لسطح الخلية ترتبط مع العديد من حوادث الإشارات السريعة التى تشمل المستويات المتزايدة من كالسيوم العصارة الخلوية وعدم استقطاب الغشاء وتنشيط شلال كينيز MAP . الميكانيكية الدقيقة التى من خلالها يتم تخليق حمض الجسمونيك ستظل واجبة التقدير . يوجد دليل يوضح أن نشاط الفوسفوليبيز A2 المنظم بالسيستيمين فى أوراق الطماطم تفرد أو تحرر حمض اللينولينك وبادىء حمض الجسمونيك ومن الليبيدات فى غشاء البلازما . كبديل فإن دور الفوسفوليبيز A1 المتمركز فى البلاستيدات الخضراء فى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك ترفع إمكانية أن إحساس أو إدراك السيستيمين عند غشاء البلازما تندمج مع تنشيط ليبيز مشابه فى الكلوروبلاست . حمض الجسمونيك المخلق استجابة للسيستيمين

OGA's والجروح تعمل في تماسك مع الاثيلين وفوق أكسيد الايدروجين كى تنظم إيجابيا تعبير الجينات المستهدفة .

٣-١- التحليل الوراثى لمسار الاستجابة للجروح فى الطماطم

التحليل الوراثى يقدم اقتراب قوى لتعريف مكونات مسار الاستجابة الجهازية للجروح . الطبيعة العنيفة للتعبير عن مثبطات البروتينيز المحفزة بالجروح فى الطماطم مع التحليل السطحى لمثبطات البروتينيز وغيرها من العلامات البيوكيميائية (مثل بولى فينول اكسيديز) للاستجابة قد استثمرت لهذا الغرض مع استمرار الكشف الوراثى تم تعريف الطفرات التى تحقق الدفاع فى التعبير بمثبطات البروتينيز استجابة للجروح الميكانيكية أو المعاملة بحامض مثيل جسمونيك (Me JA) . لقد أجرى استكشاف إضافى لتعريف الطفرات التى تخفض من تأثيرات التحفيز للنقل الجينى 35 S : P posys . هذه الاستشكافات أدى إلى إنتاج طفرات عديدة كانت ناقصة فى جينات الدفاع المعبر عنها جهازياً فى التحضير بالجروح . لذلك فإن معظم هذه الطفرات كشفت عن المقاومة المتغيرة للاستجابات المحفزة لحماية النبات .

الكلونة المعتمدة على الخرائط واقتربات الجين المقابل استخدمت لتعريف الجينات التى تم تعريفها بواسطة التحليل الوراثى اللاحق . طفرات spr 2 , Acx 1 والتى نشأت بواسطة طفرة اثيل ميثان سلفونات تعتبر دفاعية فى الجينات المطلوبة للتخليق الحيوى لحمض الجسمونيك . Spr 2 تشفر إنزيم ديستيوريز للحمض الدهنى 3 - W البلاستيدي الذى يحول حمض لينوليك إلى حامض لينوليك باديء الجسمونيك ACX1 يشفر اكسيديز المرافق A - للبيروكس سومال أسيل الذى يحفز الخطوة الأولى فى مرحلة الأكسدة B- لتخليق حمض الجسمونيك . الطفرة غير الحساسة للجسمونات (Jail) تاوى حاذف أو شاطب فى أورثولوج الطماطم فى جين غير الحساس للكوروناتين I (CoiI) فى نبات الأرابيدوسيز . CoiI يشفر بروتين F - box الضرورى للتعبير عن الجينات المستجيبة للجاسمونات بما فيها العديد من الجينات المستجيبة للجروح التى تشترك فى الدفاع ضد الحشرات . الاستراتيجيات المعاكسة الوراثية عرفت العديد من الطفرات الإضافية المستجيبة للجروح فى الطماطم . كمثال فإن الخطوط المتحولة وراثياً خاصة المهندسة وراثياً للخلل فى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك وتخليق الاثيلين وتأشير ARA وإنتاج ROS تفسد فى التعبير PI الجهازى المحفز بالجروح وغيرها من استجابات الدفاع.

٣-٢ - الجاسمونات تقدم دور فاح في التأشير الجهازى للجروح

بالرغم من التقدم الكبير فى تعريف الجينات التى تنظم استجابات الدفاع الجهازية فإن ما يعرف عن الدور الخاص لهذه المكونات فى مسار التأشير على المسافات الطويلة مازال قليل نسبياً . نظرياً فإن الجينات المطلوبة للاستجابة الجهازية تلعب دوراً فى إنتاج الإشارة المتحركة وانتقال الإشارة من الأوراق المضارة إلى غير المضارة أو السليمة . إدراك الإشارة بواسطة الخلايا المستهدفة فى الأوراق البعيدة أو خطوات التأشير المتتابة التى تؤدى إلى التعبير عن الجينات المستهدفة . طرق التطعيم التقليدية تقدم اقتراب قوى لتقدير ما إذا كانت الطفرة الخاصة تعاني نقص فى إنتاج (مثل القدرة على النقل مع التطعيم) إشارة الجروح أو تميز هذه الإشارة فى الأوراق المستجيبة . تجارب التطعيم المتبادل التى تعمل مع طفرة *Jai I* غير الحساسة لحمض الجسمونيك أظهرت أن إدراك الجاسمونات (مثل *COI 1*) ضرورى لتمييز الإشارة المتحركة على البعد فى الأوراق المستجيبة البعيدة (الشكل ١-٢ *IA d*) . لقد أدت هذه الدراسات كذلك إلى الاقتراح أن الإشارة المتحركة تنتج فى غياب *COI 1* (الشكل ١-٢ *IAC*) . التجارب التى أجريت مع طفرات التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك *JA* (مثل *Acx I*) أظهرت أن إنتاج الإشارة القابلة للنقل مع التطعيم تعتمد على التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك فى الأنسجة المجروحة (الشكل ١-٢ *113c*) . قابلية المطعوم ناقص حمض الجسمونيك للتعبير عن مثبط البروتينيز *PI* استجابة لإشارة تنبعث من أوراق الأصل البرى أظهرت لاحقاً أن التخليق الجديد لحمض الجسمونيك ليس ضرورياً لتمييز الإشارة المتحركة فى الأوراق المستجيبة (الشكل ١-٢ *IBD*) . بناء على الدراسات المتجمعة اقترح أن حمض الجسمونيك (أو مشتق حمض الجسمونيك *JA*) يعتبر مكون حرج للإشارة الجهازية . هذه النتائج تتوافق مع دراسات الترتيب الدقيق التى توضح أن الأنسجة الموضعية أو الجهازية تخضع لحوادث التأشير .

الجهاز الوعائى النباتى تشترك فى السير لمسافات طويلة لمدى عريض من المركبات المؤثرة . أظهرت الدراسات الحديثة دليل مباشر على أن الجاسمونات تنتقل فى اللحاء (الشكل ٢-٢) . كمثال فإن الإنزيمات العديدة للتخليق الحيوى لحمض الجسمونيك تقع فى معقد عنصر الغريلة فى الخلايا المصاحبة للحزمة الوعائية . لقد تم تعضيد هذه الملاحظة بواسطة حدوث حمض الجسمونيك فى حزم اللحاء من نبات بلانتاجوميور والتراكم المفضل للجاسمونات فى العرق الوسطى لورقة الطماطم . الفرضية التى تتادى بأن الإشارة الجهازية التى تنتقل فى اللحاء تم تعضيدها لاحقاً من جراء حقيقة أن الاستجابات

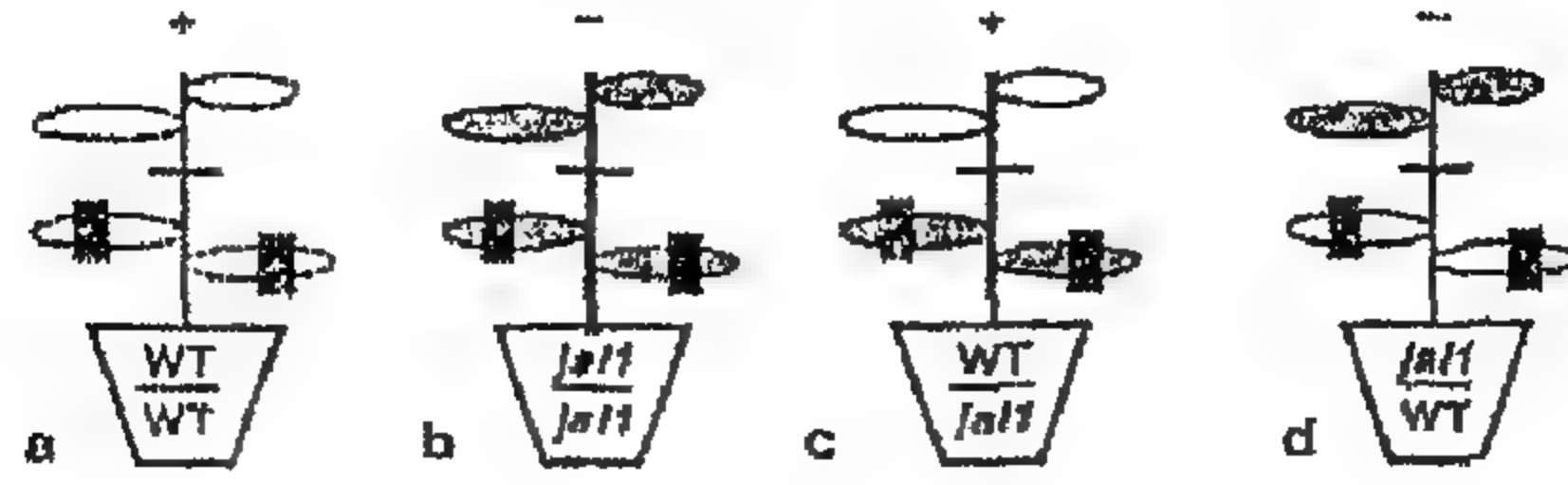
الجهازية المحفزة بالجروح تحفز بقوة بواسطة شدة الارتباطات الوعائية بين الأوراق المجروحة والمستجيبة . معدل حركة الإشارة الداخلية في نباتات الطماطم قدر بين ١ ، ٥ سم / ساعة . مقدرة اللحاء لنقل جزئيات صغيرة بمعدلات أعلى من ٤٠ سم / ساعة تعول هذه الإشارة بسهولة . بسبب أن التعبير الجهاز لمثبط البروتينيز PI يعال بواسطة الإشارة التي تسافر داخل النبات عما هو الحال مع انتشار الإشارة خلال الغلاف الجوى فإنه لا يكون هناك ميل للمثيل جسمونيك أسيد MeJA المتطاير عند موقع الجرح هو العامل المسبب للتعبير الجهازى عن مثبط البروتينيز فى الطماطم .

فكرة أن حمض الجسمونيك (JA) أو أحد مشتقاته تعمل كإشارة متحركة بسبب الجرح تنادى بأن حمض الجسمونيك المخلق فى الأوراق التالفة ينتقل للأوراق السليمة البعيدة . فى الطماطم وغيرها من ذوات الفلقتين ولو أن الزيادة الجهازية فى مستويات حمض الجسمونيك استجابة للتلف الميكانيكى تكون فى العادة منخفضة جداً (أقل من ١٠% عما هو الحال مع الأوراق التالفة) أو تكون غير معنوية . فى هذه الحالات حيث حدثت زيادة جهازية فى مستويات JA إلا أنه لم يقدر ما إذا كان تراكم الإشارات ناتج من التخليق الجديد فى الأوراق غير التالفة أو ما إذا كان حمض الجسمونيك انتقل من الأوراق مصدر الجروح . تجارب التطعيم تعضد إمكانية حدوث الفرضية الأخيرة كما هو الحال مع الحركة فى اللحاء ونشاط التأشير الجهازى لحمض الجسمونيك الخارجى . المستويات المنخفضة من JA المحفز بالجروح فى الأوراق الجهازية قد تعكس حجز الإشارة فى أنواع خاصة من الخلايا الوعائية . كبديل وهو غير اجبارى الحدوث تكون هناك إمكانية أن حزمة حمض الجسمونيك المتحرك فى اللحاء سرعان ما يحدث لها تمثيل إلى مشتق حيوى فعال آخر . مشتقات حمض الجسمونيك التى تنتج بواسطة المثلية والجليكوسيلة والكبريتة واقتتران الحمض الأمينى وفقد الكربوكسلة تم وضعها . واحد أو أكثر من هذه التحويلات قد تغير بشكل مؤثر من النقل والثبات أو تداخل حمض الجسمونيك مع الجزئيات المستهدفة (الشكل ٢-٢) .

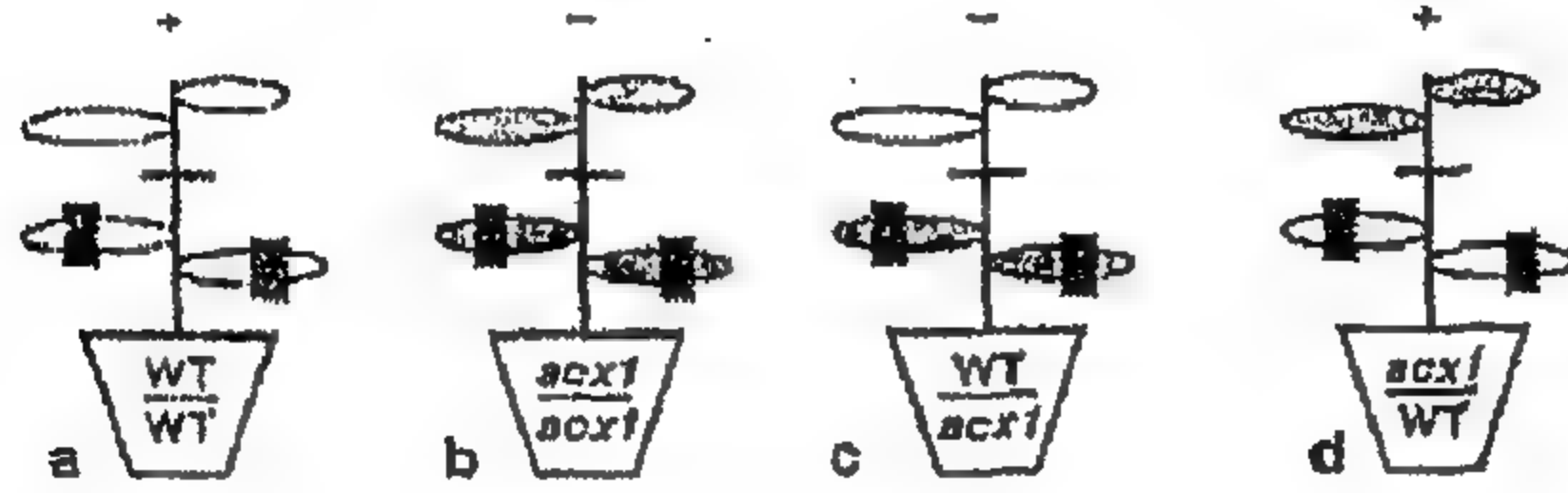
حمض ميثيل جسمونيك MeJA وبعض مقترنات الحمض الأمينى جاسموزيل (مثل JA - Ile) عبارة عن محفزات فعالة لتعبير جين الدفاع اعتماد Me JA , JA - Ile للاستجابات المحفزة على 1 COI أوضح أن كل المركبات رفقاء للإشارات فى الاستجابة الجهازية المحفزة بالجروح . تحليل الطفرات التى فشلت فى إنتاج Me JA أو JA - Ile تقدم اقتراب قوى لاختبار هذه الفرضية . تحويل JA إلى MeJA يعال بواسطة إنزيم JA كربوكسيل مثيل ترانسفيريز (JMT) بينما تحول JA إلى JA - Ile يحفز بواسطة

الإنزيم المكون للأدينالين المعتمد على ATP وهو JARI . ولو أن تأثير فقد PMT لوظيفته على استجابات الدفاع المحفزة بالجروح غير معروفة فقد اتفق على أن إنتاج JA - Ile - المعال JARI تلعب دوراً مؤثراً في عمليات تشفير الجاسمونات العديدة . علاوة على ذلك أظهرت الدراسات الحديثة أن سلاسل JARI في نبات نيكوتينيا أتينواتا مطلوبة لاستجابات الدفاع المحفزة بالجروح من جراء هجوم الحشرات . الدور الواضح والمحدد لحمض JA-Ile في الدفاع المحفز زادت من إمكانية أن الاستجابات الحيوية التي كانت ترجع في السابق إلى JA / MeJA في الحقيقة تعال بواسطة JA - Ile أو غيره من مقترنات الحمض الأميني لحامض الجسمونيك . اتساقاً مع هذه الملاحظة فإن التداخل الطبيعي بين COII ومخفضات التعبير الجيني المعتمد على الجاسمونيك والتي تؤدي إلى انهيار البروتينات الخافضة المعتمدة على البروتياسوم وقد اتضح حديثاً أنها تحفز بواسطة JA-Ile وليس بواسطة JA أو Me JA . كفاءة Me JA الخارجية كمحفز للتعبير الجيني قد تعكس قابليته للنفذية السهلة من الأغشية الخلوية (الشكل ٢-٢) . بمجرد دخولها للخلية فإن Me JA يميل للتحويل إلى JA بواسطة الاسترازات المتخصصة أو غير المتخصصة متبوعة بالتحويل إلى JA - Ile بواسطة JARI . استخدام طفرات Jar في تجارب التطعيم معاً مع القياس المباشر لمستويات JA - Ile في إخراجات اللحاء والأنسجة المجروحة مما يعطى الوعد بتقديم رؤى إضافية عن دور هذه المقترحات الفعالة حيويًا في مسار التأشير بالجروح .

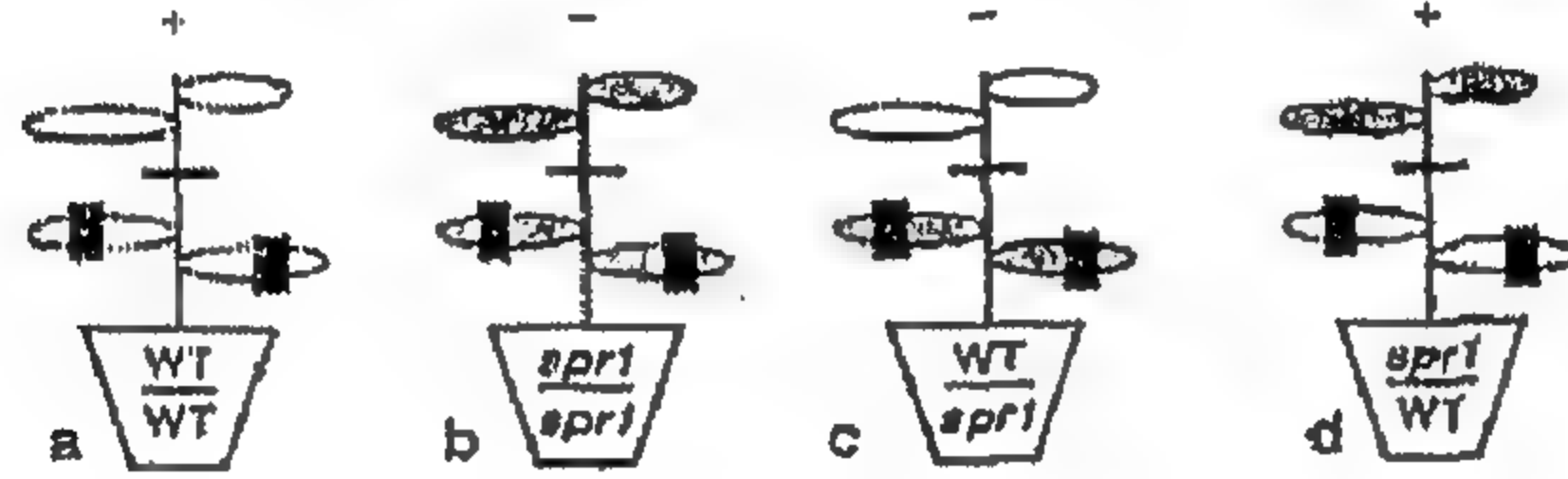
A. Grafting with a jasmonate perception mutant



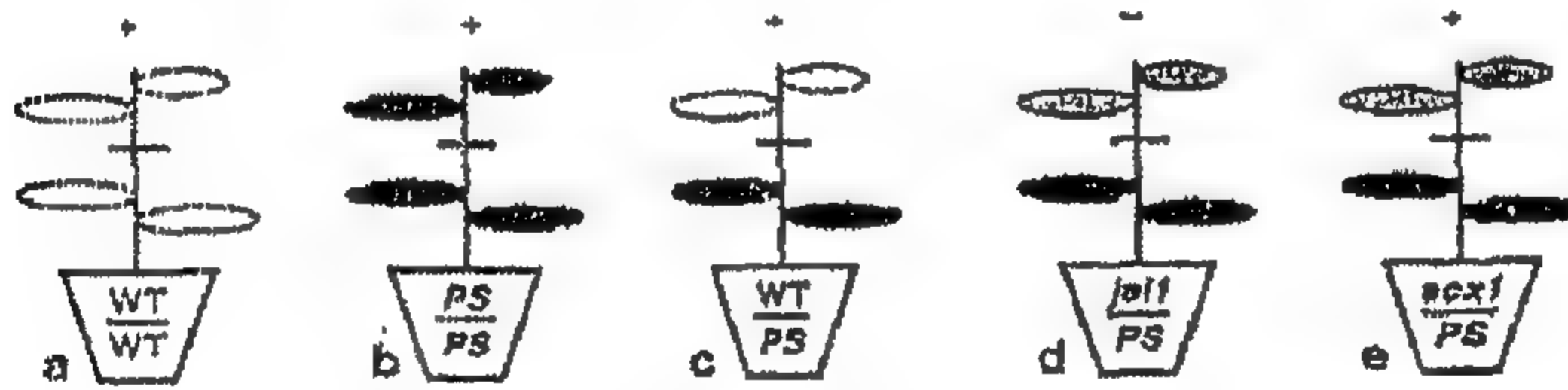
B. Grafting with a JA biosynthesis mutant



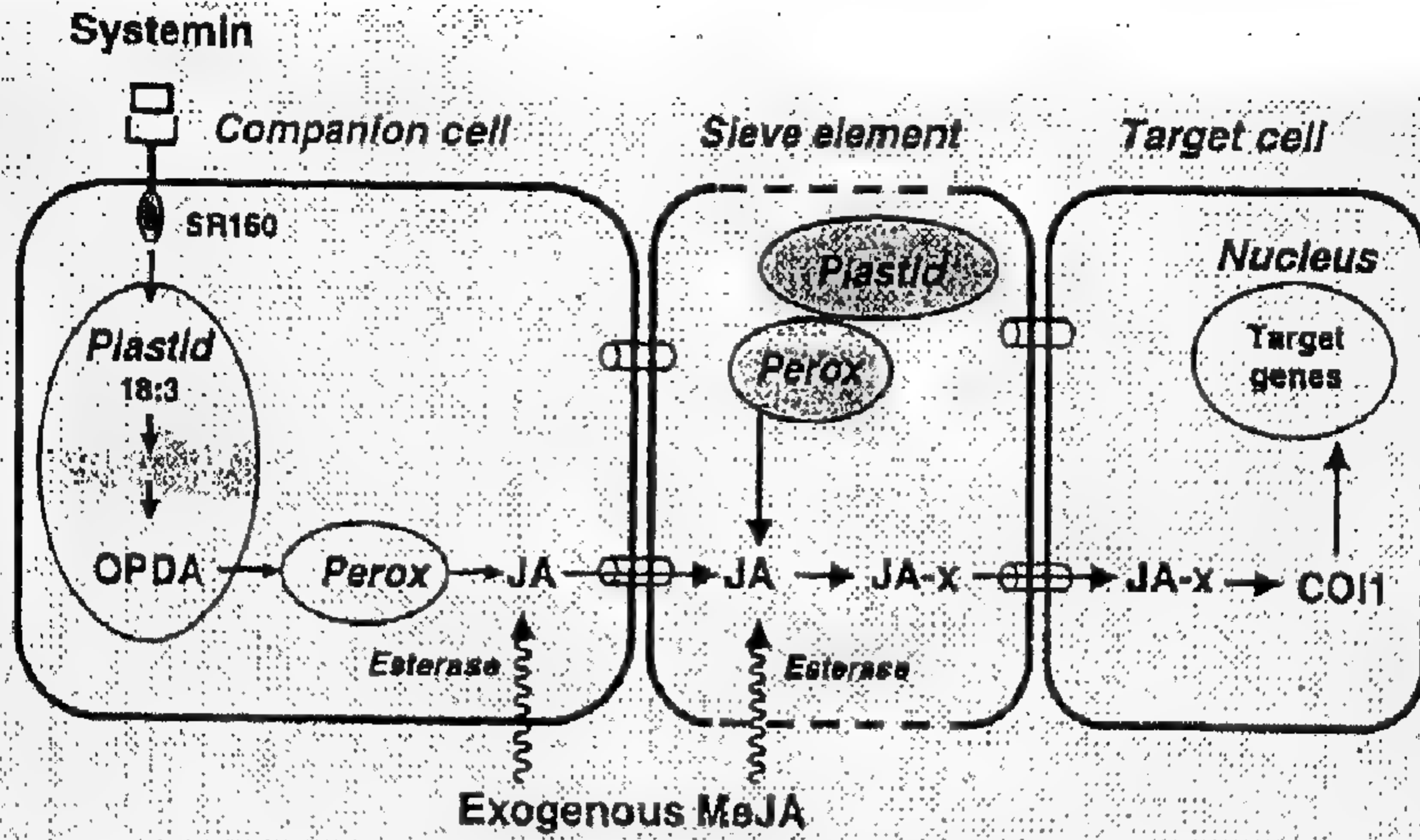
C. Grafting with a systemin-insensitive mutant



D. Grafting with a prosystemin-overexpressing mutant



شكل (١-٢) : رسم توضيحي لتجارب التطعيم التي استخدمت لدراسة دور حمض الجسمونيك في التأشير الجهازى فى الطماطم . المطعوم والطرز الوراثى الموضح موصولة عند وصلة التطعيم (القضيب الأفقى) . التجارب الموضحة فى A، B، و أوراق الطعم جرحت (المظلمة) والتعبير الجينى PI فى أوراق المطعوم السليمة تم قياسها بعد ٨ ساعات . (A) عبارة عن طفرة Jail استخدمت لدراسة دور إدراك الجاسمونات فى التأشير الجهازى بالجرح . B عبارة عن طفرة Acx I التى استحدثت لدراسة دور تخليق JA فى التأشير الجهازى بالجرح . (C) عبارة عن طفرة Spr I التى استخدمت لدراسة دور إدراك السستمين فى التأشير الجهازى . بالنسبة للتجارب فى (D) لم تحدث جروح لأن خط النقل الجينى (ps) :: 35S ينتج إشارة جهازية + و - تدل على التعبير أو نقص التعبير على التوالى لمثبط البروتينيز PI فى أوراق المطعوم السليمة . الأشكال البيضاوية غير المظلمة ترتبط بالنوع البرى من الأوراق (WT) . الأشكال البيضاوية المظلمة تشير إلى الأوراق على الطفرات Jail ، AcxI أو sprI التى لا توجد مع التأشير الجهازى بالجروح . الأشكال البيضاوية السوداء تشير إلى الأوراق على خط النقل الجينى Pgsys :: 35S .



Schematic model showing the role of JA in systemic wound signaling. Chloroplastic (Plastid) and peroxisomal (Perox) JA biosynthetic enzymes are located in vascular bundles of the leaf. Binding of systemin to its receptor (SR160) activates JA accumulation. JA synthesis in tomato leaves is also activated by systemin-independent pathways (not shown; Lee and Howe 2003). JA produced in the companion cell-sieve element complex is transported in the phloem via plasmodesmata connections between cells. JA, or a covalently modified form of JA (JA-x; such as JA-Ile), activates target gene expression in distal undamaged leaves through COII. Esterases may convert exogenous MeJA to JA upon diffusion of MeJA across membranes.

شكل (٢-٢) : نموذج توضيحي عن دور حمض الجسمونيك في التأشير الجهازى بالجروح . إنزيمات التخليق الحيوى لحمض JA الكلوروبلاستيدى (بلاستيد) والبيروكسيسوبال (بيروكس) تقع فى الحزم الوعائية للورقة . ارتباط السيستيمين لمستقبله (SR 1600) ينشط تراكم JA . تخليق حمض الجسمونيك فى الطماطم ينتج فى تصاحب مع معقد عنصر غربلة الخلية ينتقل فى اللحاء خلال البلازموديسيماتا الرابطة بين الخلايا . حمض الجسمونيك أو الصورة المحورة الرابطة للحامض (JA - x) مثل JA - Ile تنشط تعبير الجين المستهدف فى الأوراق السليمة البعيدة خلال COII . الاسترازات قد تحول حمض الميثيل MeJA الخارجى إلى JA بمجرد الانتشار للحمض MeJA عبر الأغشية .

٣-٣- تكبير إشارة الجاسمونات بواسطة السيستيمين

تنشيط تعبير مثبطات البروتينيز PI بواسطة السيستيمين تتطلب تخليق والفعل المتتابع لحمض الجسمونيك . في اتجاه التأشير بالجروح لمسافات بعيدة فإن هذا الدور للسيستيمين يعاد توافقه مع دراسات التطعيم المذكورة أعلاه إذا تم التسليم بأن السيستيمين ينشط تخليق حامض JA عند أو بالقرب من موضع تلف النسيج . هذا النموذج يتوافق مع دراسات التطعيم مما يوضح أن الطعم المنقول جينياً Prosys : : 35 S يخلق أو يولد إشارة جهازية تنشيط تعبير PI في أوراق المطعوم البرى . تميز الإشارة المشتقة : : 35 S Prosys في أوراق المطعوم تسد بواسطة JaiI وليس بواسطة الطفرات مثل AcXI التي تحدث خلل في التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك JA (الشكل ١-١ CDC) . لقد أدت هذه النتائج إلى الاقتراح بأن الأنسجة التي تعبر عن Prosys : : 35S تركيباً تخلق حمض JA والذي يتحرك حينئذ إلى أوراق المطعوم حيث تبدأ الاستجابات التي تعتمد على COIL في الخلايا المستهدفة . هذا النموذج يتوافق مع ملاحظة أن تراكم : : 35 S iprosys في النباتات تزيد من مستويات حامض JA في غياب الجروح . تنشيط تعبير PI في المطعوم ناقص JA (الشكل ١-١ IDE) يوضح أن الإشارة لمسافة طويلة الناتجة بواسطة الطعم Prosys : : 35 S لا ترتبط بالسيستيمين ولكن الإشارة التي تنشيط تعبير PI في غياب تخليق JA الجديد .

دور السيستيمين في إنتاج حمض الجسمونيك JA الموضوعي يتفق مع النتائج التي تحصل عليها من تحليل طفرة Spr I غير الحساسة للسيستيمين . طفرات Spr I تعبر عن جينات PI . استجابة للإثارة بواسطة بروتينات OGA , JA وليس استجابة للسيستيمين والبروسيستيمين . يفترض أن Spr I مطلوبة في خطوة التأشير التي تربط إدراك السيستيمين عند غشاء البلازما لتنشيط تخليق JA في الكلوروبلاست . من المثير للاهتمام أن التعبير الجهازى PI في نباتات SprI تتلف بدرجة أكثر عما هو الحال مع الاستجابة الموضوعية . هذا الطراز الفينولوجى تشابه بدرجة كبيرة النباتات المضادة للحساسية Prosys وتقدم دليل بأن البروسيستيمين يعمل أساساً في الاستجابة للمسافات الطويلة . لقد قدمت تجارب التطعيم دليل على أن وظيفة Spr I (مثل إدراك السيستيمين) يشترك أولاً في توليد الإشارة الجهازية في الأوراق المجروحة وليس مطلوباً لتمييز الإشارة في الأوراق غير التالفة المستجيبة (شكل ١-١ IC) الاستنتاج الأكثر استقامة لهذه النتائج يشير إلى أن البروسيستيمين تعمل عند أو بالقرب من مكان الجرح لتكبير تراكم حمض الجسمونيك JA وتقوية الاستجابة الجهازية .

لقد أتضح أن الإشارات العديدة التي تتضمن JA ، سيستمين وفوق أكسيد الأيدروجين تتداخل خلال نظام شريط الإمداد لتكبير الإشارة ذات المسافة الطويلة عن طريق اللحاء . هناك حاجة لدراسات مستقبلية لفهم كيف أن هذه الإشارات تتداخل مع بعضها البعض لتحفيز الاستجابة الجهازية للجروح وتقدير أي من هذه الإشارات التي تحفظ وظيفياً في الأنواع النباتية الأخرى . غياب سلاسل جين Prosys خارج العائلة الباذنجانية أدت إلى الاقتراح بأن السيستمين قد يشترك في مدى ضيق من النباتات وربما ميكانيكية لتكبير استجابات الدفاع الجهازية ضد هجوم الحشرات . ملاحظة أن عمل السيستمين يحدث سريعاً ثم تعضيده بواسطة الدراسات الحديثة موضحاً أن سلسلة السيستمين في نبات سولانم ينجرم لا يشترك في استجابات الدفاع المباشرة التي تحفز بالجروح . التأشير المعتمد على الجاسمونات من جهة أخرى يبدو أنه يلعب دوراً محورياً في تنظيم الاستجابات للضغوط الحيوية في جميع النباتات . الأدلة المتزايدة تشير إلى أن دور الجاسمونات في تحفيز الدفاع الجهازى قد يكون أكثر عمومية عما كان يعتقد في السابق . هذه النتائج المتجمعة تؤيد صلاحية المفهوم الأصلي للباحث Ryan's الذى نادى بأن الإشارات الكيميائية التحذيرية التي تنتج عند السطح بين النبات والآفة تعول المناعة الجهازية للضغوط أو الإجهادات الحيوية .

٤ - المنظورية Perspectives

منذ الاكتشاف الأول للعالم Ryan ومعاونوه عن الهضم ومثبطات البروتينيز الاختزالية كوسيلة دفاع محفزة في العائلة الباذنجانية منذ ٣٥ عاماً فإنه تم تعريف ميكانيكيات التحفيز للدفاع المباشر ضد آكلات الأعشاب الحشرية خلال المملكة النباتية من الطحالب الخضراء وحيدة الخلية وحتى الأشجار . لقد تم تعريف وفرة من عوامل المقاومة المورفولوجية والكيميائية المحفزة التي تحفز تيسر المواد الغذائية (مثل غرس السليكا لمعاودة التعضيد تركيبياً ، نواتج تمثيل ثانوية مضادة للتغذية والبروتينات) أو تكون سامة ضد آكلات العشب (مثل نواتج التمثيل الثانوية بما فيها التربينويدز ، الفينولات والالكالويدز) . دراسات الترتيب الدقيق العديدة التي استهدفت عند تحليل التغيرات العالمية في التعبير الجينى بعد الإصابة بأكالات النباتات قد أكدت التعبير المحفز للعديد من جينات الدفاع . بالإضافة إلى ذلك فإن إعادة البرمجة المكثفة للتعبير الجينى التي لوحظت في هذه الدراسات أدت إلى الاقتراح بأن هجوم أكل النبات يؤدي إلى التغير من التمثيل النباتى في اتجاه النمو الموجه إلى اتجاه الدفاع الموجه . عدد الجينات المحفزة بأكالات العشب يبدو أنها تزيد بشكل كبير المتطلبات الخاصة بالصفات المعروفة للمقاومة مما أدى إلى الاقتراح بأن المكونات الإضافية للدفاع المحفز تظل في ناحية الاكتشاف . في الحقيقة فإنه بالإضافة إلى التداخل المباشر مع سلوك أومورفولوجي أكل العشب فإن النباتات قد تستخدم الأرض المحروقة أو استراتيجيات الهروب كوسائل دفاع مكملة . المصادر

الكربونية والنتروجينية القيمة تتحرك في الأعضاء التي أضررت بأكل العشب ومن ثم تستخدم في تخليق عوامل المقاومة أو تخزين بعيداً من الوصول لأكل العشب . من المفترض أن الأعضاء النباتية ناقصة التغذية سوف تعضد بشكل فقير نمو وتطور آكلات العشب المهاجمة . إعادة وضع المصادر المتحركة للتخزين المؤقت للبروتينات (بروتينات التخزين الخضرية ومثبطات البروتينيز) و / أو أعضاء التخزين تحت الأرض (البصلات والدرنات) والتي تعضد إعادة النمو لاحقاً وقد تسمح للنباتات بالهروب من آكلات العشب في الوقت المناسب . في الحقيقة فإن إدخال الكربون المحفز إلى الجذور استجابة لهجوم أكل العشب لوحظ حديثاً في نباتات نيكوتينيا أتينيوثا مما يؤدي إلى تأخير الشيخوخة وإطالة مرحلة التكاثر . نقل السكرورز للجذور وجدت متحكم فيها بواسطة SNPKI وهو البروتين كينيز الذي ينظم بسرعة في الأوراق بعد هجوم ماندوكا سيكستا . هذه الدفاعات اللطيفة مازالت غير مفهومة جيداً على المستوى الجزيئي وسوف تظل مجال مثير للدراسات في المستقبل .

لقد حدث تقدم مذهل في مجال حوادث التأثير التي تؤدي إلى التعبير الجهازي عن صفات الدفاع استجابة لهجوم آكلات العشب . هذا يتضمن اكتشاف السيستمين كأول ببتيد له نشاط مشابه للهورمون في النباتات والتي يعتقد الآن أنها تعمل في منطقة موقع الجرح لتعظيم إنتاج الإشارة للمسافات الطويلة في النظام الوعائي . ولو أن جزيء الإشارة الجهازي مازال تحت التعريف فإن الدليل الحديث يقترح أن حمض الجاسمونيك JA أو ناتج تمثيل JA ومن الممكن JA - Ile قد تعمل كإشارة متحركة في اللحاء . إدراك الجاسمونات وتنشيط جينات الدفاع في الأنسجة المستهدفة أتضح أنها تعتمد على COI 1 وهي جزء من E3 ubiquitin ligase أو (SCFCOI1) والذي تم التنبؤ على أنه يقود حامض تأثير JA للانهيال بواسطة مسار البروتينوسوم - يوبيكويتين .

قائمة المراجع

References

- Agrawal A.A. (1998). Induced responses to herbivory and increased plant performance. *Science* 279: 1201-1202.
- Agrawal A.A. (1999). Induced plant defense: evolution of induction and adaptive phenotypic plasticity. In: Agrawal A.A., Tuzun S, Bent E (eds) *Induced plant defenses against [pathogens and herbivores: biochemistry ecology and agriculture*. APS Press, Minnesota, pp 251-268.
- Baldwin IT (1998). Jasmonate-Induce responses are costly but benefit plants under attack in native populations. *Proc. Natl. acad. Sci. USA* 95: 8113-8118.

- Bennett R.N., Wallasgrove RM (1994). Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytol.* 127: 617-633.
- Carrera E, Prat S (1998). Expression of the *Arabidopsis* *abi-1* mutant allele inhibits proteinase inhibitor wound-induction in tomato. *Plant J.* 15: 765-771.
- Carroll CR, Hoffman CA (1980). Chemical feeding deterrent mobilized in response to insect herbivory and counteradaptation by *Epilachna tredecimnotata*. *Science* 209: 414-416.
- Davis JM, Gordon MP, Smit BA (1991). Assimilate movement dictates remote sites of wound-induced gene expression in poplar leaves. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 2393-2396.
- De Vos M, Van Oosten VR, Van Pecke RMP, Van Pelt JA, Pozo MH, Mueller MJ, Buchala AJ, Metraux JP, van Loon LC, Dicke M et al (2005). Signal signature and transcriptome changes of *Arabidopsis* during pathogen and insect attack. *Mol Plant Microbe Int* 18: 923-937.
- Ehrlich PR, Raven PH (1964). Butterflies and plants: a study in coevolution. *Ecology* 18: 586-608.
- Farmer EE, Ryan CA (1992). Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. *Plant Cell* 4: 129-134.
- Feeny P (1970). Seasonal change in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology* 51: 565-581.
- Gatehouse JA (2002). Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. *New Phytol* 156: 145-169.
- Giri AP, Wunsche H, Mitra S, Zavala JA, Muck A, Svatos A, Baldwin IT (2006). Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*, VII. Changes in the plant's proteome. *Plant physiol* 142: 1621-2641.
- Hause B, Hause G, Kutter C, Miersch O, Wasternack C (2003). Enzyme of jasmonate biosynthesis occur in tomato sieve elements. *Plant Cell Physiol* 44: 643-648.
- Hessen DO, van Donk E (1993). Morphological changes in *Scenedesmus* induced by substances released from *Daphnia*. *Arch hydrobiol* 127: 129-140.
- Ishiguro S, Kawai-Oda A, Nishida I, Okada K (2001). The defective in anther dehiscence gene encodes a novel phospholipase A1 catalyzing the initial step of jasmonic acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation,

- anther dehiscence, and flower opening in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 13: 2191-2209.
- Kang J-H, Wang L, Giri A, Baldwin IT (2006). Silencing threonine deaminase and JAR4 in *Nicotiana attenuata* impairs jasmonic acid-isoleucine-mediated defenses against *Manduca sexta*. *Plant Cell* 18: 3303-3320.
- Karban R, Baldwin IT (1997). *Induced responses to herbivory*. University of Chicago Press, Chicago.
- Lampert W, Rothhaupt KO, von Elert E (1994). Chemical induction of colony formation in a green alga (*Scenedesmus acutus*) by grazers (*Daphnia*). *Limnol Oceanogr* 39: 1543-1550.
- Lawrence SD, Dervinis C, Novak N, Davis JM (2006). Wound and insect herbivory responsive genes in poplar. *Biotechnol. Lett* 28: 149-1501.
- Lee GI, Howe GA (2003). The tomato mutant *spr1* is defective in systemin perception and the production of a systemic wound signal for defense gene expression. *Plant J* 33: 567-576.

ثانياً : الدفاع غير المباشر المحفز ضد آكلات العشب : من ميكانيكيات التحفيز حتى إيكولوجى الجماعة :

آكلات العشب قد تحفز دفاعات النبات التى تشجع نشاط الأعداء الطبيعية لآكلات العشب . هذا ما يطلق عليه الدفاع المحفز غير المباشر والذي قد يتضمن إنتاج المواد النباتية المتطايرة التى تجذب مفصليات الأرجل آكلات اللحوم أو الرحيق الذى يعتبر طعام بديل بواسطة آكلات اللحوم . الدفاع النباتى المحفز غير المباشر يعال بواسطة مسارات نسخ إشارية مختلفة مثل حمض الجسمونيك وحمض السلسليك ومسارات الاثيلين وقد تتضمن إعادة ترتيب النسخ على نطاق واسع . استجابات الدفاع المحفز غير المباشر فى النباتات تؤدي إلى طراز فينولوجى متغير ومن ثم تؤثر على تداخلات النبات مع مختلف أفراد الجماعة : يتم طرد المهاجمة ، انجذاب الأعداء الطبيعية (فوق وتحت الأرض) والملقحات قد تغير من زيارة الأزهار والنباتات المجاورة قد تستثمر المعلومات الواردة من النباتات التى هوجمت لبدء استجابات الدفاع كذلك . فى هذا المقام سوف نناقش العديد من الاقتربات التى يشيع استخدامها فى الدراسات الجزيئية والكيميائية والإيكولوجية لدفاعات النبات المحفزة غير المباشرة وتعريف بعض الثغرات المعرفية واتجاهات البحوث فى المستقبل . تكامل الاقتراب الميكانيكية مع اقتراب الجماعة الإيكولوجى يقدم هام فى فهم الضغوط أو الاجهادات الاختيارية وديناميكية التداخلات الإيكولوجية التى تعال بواسطة الدفاعات النباتية المحفزة غير المباشرة وكذلك الميكانيكيات المرتبطة بها .

١ - مقدمة

النباتات تواجه العديد من التحديات طوال فترة حياتها . الجفاف والفيضانات ودرجات الحرارة المرتفعة والمنخفضة أو الثدييات التى تلتهم النباتات جمعياً . برغم جميع هذه الصعوبات ولكي تتكاثر النباتات فقد طورت ميكانيكيات دفاعية لحماية أنفسها بخلاف الابتعاد بعيداً . دفاعات النباتات ضد مفصليات الأرجل آكلات العشب يمكن أن تقسم كدفاعات مباشرة direct defenses التى تؤثر على فسيولوجى المهاجمين أو دفاعات غير مباشرة التى تحفز فاعلية الأعداء الطبيعية لآكلات العشب (الشكل ٢-٣) . الدفاع غير المباشر يوفر :

- أ - توفير المأوى مثل الأشواك المجوفة التى تستخدم بواسطة النمل كعشوش .
- ب - إنتاج طعام بديل مثل الرحيق الذى يستخدم بواسطة مفصليات الأرجل آكلة اللحوم مثل النمل والدبابير الطفيلية .
- ج - انبعاث مواد متطايرة نباتية محفزة لآكلات العشب والتى ترشد مفصليات الأرجل آكلات اللحوم مثل المفترسات والطفيليات لضحاياها من آكلات العشب.

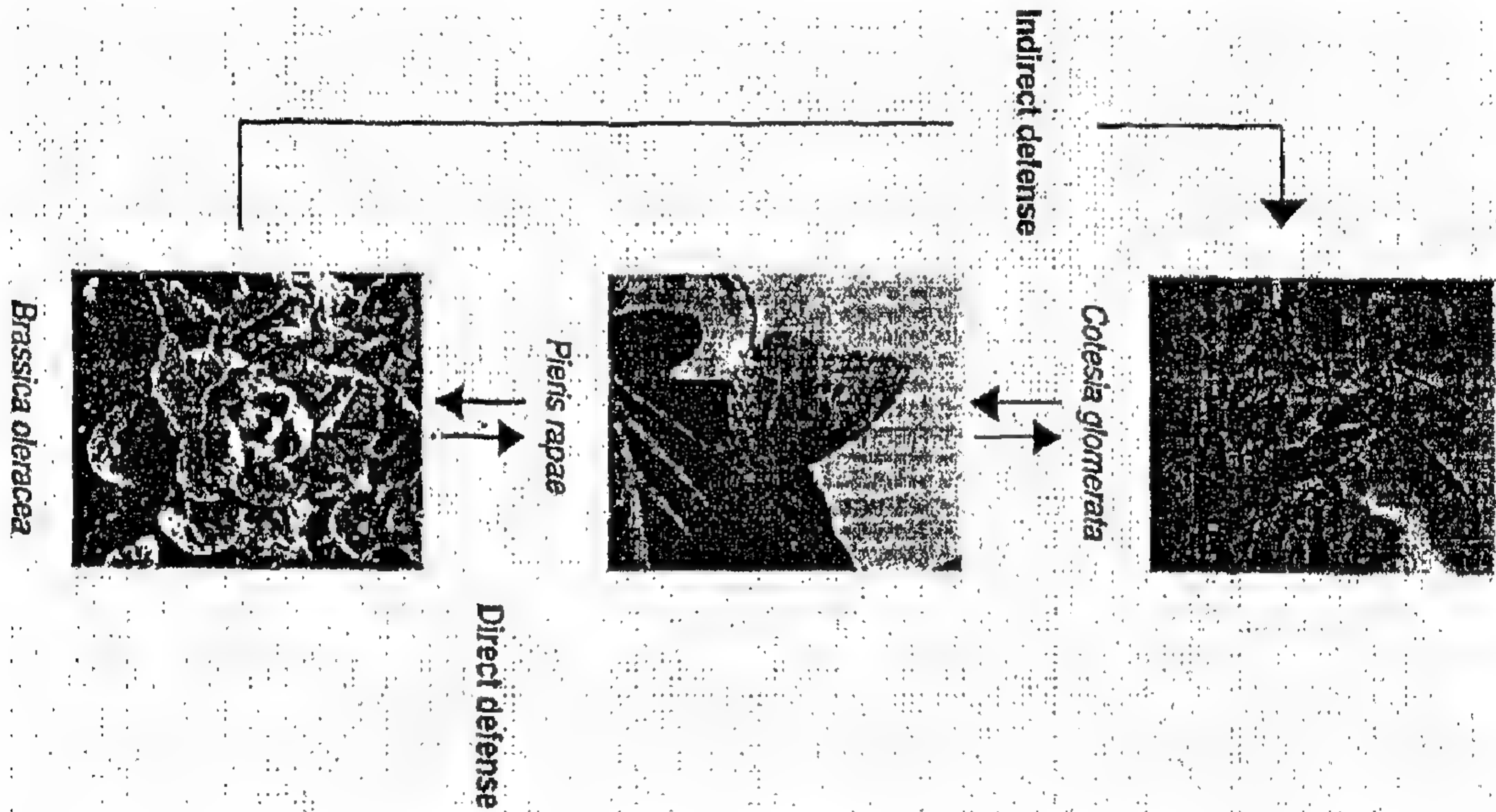
كل هذه العوامل تدعم وجود ووفرة الأعداء آكلات اللحوم لمفصليات الأرجل آكلات النباتات وما يستتبع ذلك من خفض وجود آكلات النباتات .

M. Dicke

Laboratory of Entomology . Wageningen University . 6709 PD Wageningen . The Netherlands .

e-mail : Marcel.Dicke@Wur.nl

A.Schaller (ed) , Induced Plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008



شكل (٢-٣) : الدفاع المباشر للنبات له تأثير سالب على مهاجم النبات . الدفاع غير المباشر للنبات تصون أو تجذب آكلات اللحوم التي تستهلك أو تتطفل على مهاجم النبات ومن ثم تحقق تأثير سالب على المهاجم مما يساهم في دفاع النبات .

أخذت الصور بواسطة :

Photographs were taken by Hans M. Smid (C. glomerata) , Nelly Cardinel (B. oleracea) and Maaïke Bruinsma (P. rapae) .

في هذا المقام سوف نناقش الدفاع غير المباشر خاصة الدفاع غير المحفز المباشر . آكلات العشب تحفز إنتاج الرحيق أو المواد النباتية المتطايرة ونتيجة لذلك تتغير فينولوجية النبات . الرحيق قد يعمل كغذاء لمختلف الحيوانات في الجماعة والمواد المتطايرة تستخدم

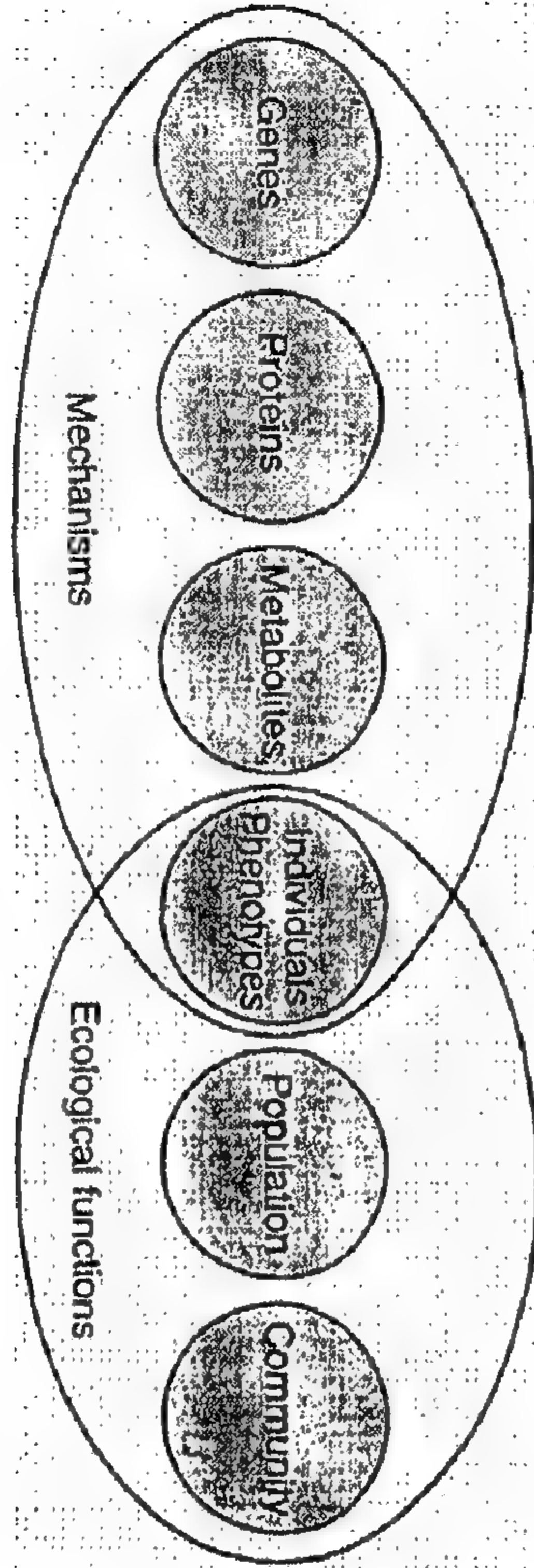
بواسطة الحيوانات كى تستوطن النبات . خلال المملكة النباتية فإن العديد من الأنواع وجد أنها تنتج كيميائيات معلوماتية محفزة بأكلات العشب تعمل على جذب الأعداء الطبيعية من آكلات اللحوم لمفصليات الأرجل آكلات الأعشاب . تأثير هذه التغيرات الفينولوجية على الأعداء الطبيعية آكلات اللحوم لآكلات النباتات لاقت الكثير من الاهتمام . على سبيل المثال نباتات فول اللبنة المصابة بالعناكب الحمراء يبدأ فى إنتاج مدى من المواد المتطايرة تتضمن التربينويدز والمثيل ساليسيلات والعديد منها بجذب الأكاروسات المفترسة التى تستهلك العناكب الحمراء أكولة النباتات . بالإضافة إلى ذلك فإن آكلات الأعشاب تحفز إنتاج الرحيق فى نباتات فول اللبنة وهذا يؤدى إلى زيادة أعداد ودوام زيارات النمل والدبابير . زيادة زيارة النبات بواسطة مفصليات الأرجل آكلة للحوم تؤدى إلى خفض كمية التلف فى الأوراق.

هذا ولو أن النباتات تمثل أساس معظم الشبكات الغذائية الأرضية سواء تحت أو فوق الأرض مع عدد وافر من التداخلات الحركية والايكولوجية . التداخلات الايكولوجية قد تتضمن تداخلات مباشرة مثل التداخلات بين المفترس والضحية أو التنافس بين آكلات الأعشاب وكذلك التداخلات غير المباشرة مثل التنافس الظاهر والتأثيرات غير المباشرة التى تعال بالصفات الخاصة . فى العديد من الدراسات فإن التداخلات بين الأنواع تعتبر واجبة الثبات : جميع الأفراد داخل المجموع تعتبر لها نفس الصفات وتتداخل بنفس الطريق مع الكائنات الأخرى . وهذا ولو أنه بسبب مرونة الفينولوجية فإن التداخلات داخل المجتمعات تعتمد على البيئة المحيطة والتى تشير إلى أنها لا تتأثر فقط بالطراز الجينى ولكنها تتأثر كذلك بالحالة الفسيولوجية وتيسر المصادر والتداخلات مع أفراد الجماعة . نتيجة لذلك فإن فهم تأثيرات المرونة الفينولوجية ذات أهمية لفهم حركات الجماعة (شكل ٢-٤) .

ولو أن التغير الفينولوجى قد يؤثر على العديد من التداخلات فى الجماعة فإن الدفاعات النباتية غير المباشرة المحفزة بأكلات العشب درست فى السلاسل الغذائية البسيطة ثلاثية المستويات بدون الأخذ فى الحسبان . التأثيرات التى يمكن أن يحدثها على الأعضاء الأخرى فى الجماعة . دراسة تأثيرات التغيرات الفينولوجية على العمليات التى تحدث فى الجماعة واحدة من التحديات الكبرى التى يواجهها رجالات الايكولوجى فى البحوث عن الدفاعات النباتية التى تحفز من جراء الإصابة بأكلات الأوراق . فهم الضغوط الانتخابية وحركات التداخلات الايكولوجية هام لفهم ايكولوجى ونشوء المجتمعات .

لدراسة التتابعات التى تحدث فى الجماعات للدفاعات النباتية غير المباشرة المحفزة فإن الفهم الواعى للميكانيكيات التى تحدثها ضرورية حيث أن المعلومات الميكانيكية تسمح

بتطور وسائل للمناورة . تجارب المناورة مهمة للوقوف على تأثيرات الدفاع المحفز على مدى من التداخلات الفردية أو على الحزمة الكلية من التداخلات .



شكل (٢-٤) : الدفاع غير المباشر المحفز يمكن أن يحدث عند مستويات مختلفة من التنظيم الحيوى بواسطة دراسة ميكانيكيات التحفيز عند مستويات مختلفة من الجينات حتى مستوى الأفراد أو بواسطة دراسة الوظائف الايكولوجية عند مستوى الأفراد حتى الجماعة . تكامل هذه الاقترابات أثبتت أنها الأكثر اكتساباً . المرونة الفينولوجية تلعب دوراً محورياً فى فهم كلا الميكانيكيات المعروفة للدفاع المحفز وتتابعات الدفاع المحفز لحركية الجماعة .

فى هذا المقام سوف نتناول ميكانيكيات النظم الدفاعية النباتية غير المباشرة المحفزة وكيف يمكن استخدام هذه المعلومات لدراسة التفاعلات الايكولوجية لهذه الدفاعات على مستوى التداخلات الايكولوجية المتعددة والجماعة .

٢- تحفيز الدفاع غير المباشر فى النباتات :

آكلات النباتات تستطيع أن تسبب العديد من أنواع التلف والضرر على النباتات تبعاً لطبيعة التغذية التى تنتمى إليها . كمثال فإن الديدان تقوم بتناول قطاعات صغيرة من الأوراق بينما الحشرات الأخرى تتغذى على أجزاء خاصة من مادة الورقة : الحشرات صانعة الأنفاق تتغذى على النسيج البرانشيمى بينما المن يتناول اللحاء . الأنواع المختلفة من التلف قد تؤدي إلى استجابات دفاعية متنوعة فى النبات . فى هذا المجال سوف نناقش استجابات النبات والميكانيكيات المختلفة لتحفيزها .

٢-١- استجابة النبات :

فى استجابة مفصليات الأرجل آكلة النباتات فإن النبات قد ينشط العديد من مسارات نسخ الشفرات التى تشترك فى استجابة الدفاع : حامض الجسمونيك (JA) وحمض السلسليك (SA) والايثلين (ET) . مسارات التشفير هذه تحفز بشكل متفاوت بواسطة عوامل التغذية المختلفة أو التلف الاصطناعى . مسارات النقل الثلاثة للإشارات تتداخل كذلك : حمض JA يثبط تأثير SA وحمض السلسليك SA يتداخل مع التحفيز المعال بـ حمض JA . على نفس المنوال فإن حمض الجسمونيك JA والايثلين ET يؤثر تنشيطياً على تحفيز تعبير الجينى للدفاع فى نباتات الطماطم بينما الايثلين يثبط تأثير JA على تحفيز النيكوتين فى نباتات الدخان .

مسار النقل الإشارى الأكبر الذى تتضمن استجابات النباتات لآكلات الأوراق الحشرية هى مسار حامض الجسمونيك أو مسار الأوكتاديكانون (جدول ٢-٢) . الأوكتاديكانونيدز تخلق من الحمض الدهنى المحتوى على ١٨ ذرة كربون وهو حمض لينولينيك الذى ينفرد من ليبيدات الغشاء استجابة للتنشيط المرتبط مع الجروح . خلال مسار الأوكتاديكانونيد مع ١٣- هيدروبيروكسى لنولينيك أسيد والأوكسو - فيتودينويك أسيد (OPDA) وغيرها من المركبات كوسائط والهورمون النباتى حامض الجسمونيك الذى ينتج . أفراد هذا المسار ذات أنشطة حيوية مختلفة . حمض الجسمونيك JA يحفز عدد كبير من الجينات وإطلاق خليط من المواد المتطايرة المتشابهة ولكنها غير متطابقة مع الخليط الذى يحفز بواسطة آكلات النباتات . حمض الجسمونيك لا يؤثر فقط على تحفيز الدفاعات ولكن على عمليات التطور وخصوبة الذكور . حمض OPDA يحفز كذلك التعبير الجينى وانبعاث المواد المتطايرة وهى أقل فاعلية بالمقارنة بحامض الجسمونيك .

حامض JA يتحول إلى مثيل جاسمونات أو سيس جاسمون وكلاهما يستطيعا تحفيز الدفاعات في النباتات .

جدول (٢-٢) : مسار الأوكتاديكونون وتأثير المناورة بالخطوات المختلفة على انبعاث المواد المتطايرة من فول اللبنا على جذب الأعداء الطبيعية لمهاجمي فول اللبنا

Octadecanoid pathway	Elicitation Inhibition	Manipulation with	Volatile emission in response to manipulation	Carnivore attraction
Herbivory				
↓				
linolenic acid	→	Linolenic acid	DMNT, TMTT ¹	n.t.
↓	---	Phenidone	No volatile production upon elicitation after pretreatment with inhibitor ¹	n.t.
13-hydroperoxylinolenic acid	---	DIECA	No volatile production upon elicitation after pretreatment with inhibitor ¹	n.t.
↓	---	n-propyl gallate	No volatile production upon elicitation after pretreatment with inhibitor ¹	n.t.
12,13-epoxy-octadecatrienoic acid	---	OPDA	DMNT, TMTT ^{1,4}	Yes ¹
↓	→	Jasmonic acid	Similar blend as that induced by spider mite infestation ² Hexenyl acetate, β-cimene, linalool, DMNT, C ₁₀ H ₁₄ , C ₁₀ H ₁₆ O indole ¹	Yes ^{2,3}
jasmonic acid (JA)	→	Methyl jasmonate	n.t.	Yes ¹
↓				
methyl jasmonate (MeJA)				

References: ¹ Koch et al. 1999; ² Dicke and Van Poecke 2002; ³ Dicke et al. 1999; ⁴ Boland et al. 1999; n.t. = not tested

تحفيز Elicitation

تثبيط Inhibition

انجذاب آكلات النباتات Carnivore attraction

المناورة بواسطة Manipulation with

انبعاث المواد المتطايرة Volatile emission

من حامض ١٣- هيدروبيروكسي لينولينيك توجد فرع جانبي لمسار أوكتاديكانويد يؤدي إلى إنتاج ما يعلق عليه المواد المتطايرة للأوراق الخضراء (GLVs) مثل C6 كحولات ، C6 الدهيدات ومشتقاتهم من الخلطات . هذه المركبات تستطيع جذب كلا مفصليات الأرجل آكلة النباتات وآكلة الحيوانات من جانب واحد وتدفع النباتات المجاورة

لتحفيز الدفاعات من جهة أخرى . بالإضافة إلى مسار أوكتاديكانويد فإن الجروح تعمل كذلك على تحفيز مسار هكساديكانويد بداية من حامض (Z) 13 , (Z) 10 , (Z) 7 هكساديكاترينويك الذي يقود إلى حمض الجسمونيك (JA) . تحفيز كلا المسارين قد تؤدي إلى توقيعات أوكسي ليبين الخاصة الذي يسمح للنباتات لعمل نغمة صافية لاستجابتها للجروح أو هجوم آكلات النباتات . تنشيط مسارات نسخ الإشارات قد يؤدي إلى تحفيز الدفاع المباشر وغير المباشر . العديد من أنواع نواتج التمثيل الثانوية تشترك في الدفاع المباشر التي تحدث عند حدوث التلف من جراء الإصابة بآكلات النباتات وكمثال المركبات غير المتطايرة مثل مثبطات البروتينيز الجلوكونيدولات والألكالويدز . كاستجابة دفاعية غير مباشرة فإن النباتات تستطيع إنتاج المواد المتطايرة مثل الكحوليات والاسترات والتربينويدز أو الغذاء البديل مثل الرحيق . النباتات المحفزة تستطيع إنتاج إما نفس المواد المتطايرة كما في النباتات غير المحفزة ولكن بكميات مختلفة أو نسب مختلفة أو قد تستطيع إنتاج مواد متطايرة جديدة التي لا تتبع بواسطة النباتات السليمة . هذا ولو أنه خلال نوعي الاستجابات تقوم النباتات بإنتاج نواتج تمثيل جديدة مما يوضح نوع من الاستثمار في الدفاع عما هو الحال مع مجرد انطلاق سلبي للمركبات .

إسهام مسار حمض الجسمونيك JA في تحقيق الدفاع غير المباشر درست باستفاضة في أوساط التداخلات ثلاثية التغذية . حمض الجسمونيك نفسه ليس جاذباً أو طارداً ولكنه يحفز عمليات التخليق الحيوي في النباتات (مثل إنتاج الكيمياءات المعلوماتية المتطايرة) التي تسبب استجابات سلوكية في الحشرات . تفاعلات الدفاع المحفزة بحمض الجسمونيك قد تقوم بطرد آكلات النباتات أو جذب أعدائها الطبيعية . بالإضافة إلى التأشير بحمض الجسمونيك فإن التداخلات ثلاثية التغذية أظهرت أنها تشترك في مسار SA . إنتاج ميثيل سالييلات (MeSA) يحفز بواسطة الإصابة بالعنكبوت الأحمر في فول اللبنة والطماطم وتجذب الأعداء الطبيعية للأكاروسات .

ميكانيكية الدفاع غير المباشرة الأخرى تتضمن تأشير حمض الجسمونيك JA والتي تتمثل في إنتاج غذاء بديل مثل الرحيق التي يمكن (ENF) (Extra Floral nectar) أن يستخدم بواسطة أعضاء المستوى الثالث من التغذية . ENF تفرز من غدد الرحيق خارج الأزهار والتي يمكن أن تحدث على التبلات . تركيب الرحيق يختلف بشكل كبير بين غدد الرحيق للنبات الواحد . إنتاج ENF يزداد بمجرد مهاجمة آكلات النبات . المستوى الأعلى للرحيق يوجد في الأوراق حيث تتغذى آكلات الأوراق ولكنها يمكن أن تزيد كذلك في الأوراق الجهازية . التجريح واستخدام حمض الجسمونيك يزيد من إنتاج الرحيق ENF . علاوة على ذلك فإن إفراز الرحيق يقل بواسطة الفينيدون وهو مثبط للخطوة المبكرة في مسار أوكتاديكانويد (جدول ٢-٢) مما يعرض دور حمض الجسمونيك JA في تحفيز إفراز ENF . الرحيق EPN يعمل كمصدر غذائي بديل وقد يزيد من دوام

المفترسات التي تزود النباتات . المفترسات تنتشر ببطء أكثر من النباتات التي فيها رحيق أكثر بالمقارنة بالنباتات ذات الرحيق القليل والنباتات قد تستفيد من وجود المفترسات .

٢-٢- التحفيز بواسطة آكلات النباتات

عندما تتغذى آكلات النباتات على النبات سواء عن طريق القرص أو تناول الرحيق أو التغذية على محتويات الخلية فإنها تحفز مسارات التأشير للهورمونات النباتية Phytohormone وبالتبعية تحفز استجابة النبات . التأشيريات المحفزة بالهورمونات النباتية متخصصة تبعاً لنوع المهاجم : نوعياً وكمياً ومؤقتاً . أظهرت الدراسات العديدة تخصصية المهاجم عند مستوى التعبير الجيني الشامل ولو أن بعض الدراسات الأخرى أظهرت استجابات استنساخ مشابهة بعد الهجوم بواسطة آكلات النباتات المختلفة . المواد المتطايرة النباتية المحفزة بواسطة آكلات النبات يمكن أن تكون متخصصة تبعاً لنوع أكل النبات وحتى طور أكل النبات الذي يتغذى على النبات .

المجاميع الرئيسية للمواد المتطايرة النباتية التي تحفز بواسطة آكلات النباتات هي عبارة عن المواد المتطايرة من الأوراق الخضراء والتربينات والفينولات . تحفيز انبعاث المواد المتطايرة يعال بواسطة تحفيز المسارات الثلاثة الرئيسية لنقل الإشارات وهي ET , JA , SA والتي تحفز بشكل مختلف بواسطة الحشرات ذات عادات التغذية المختلفة . في فول الليمون كمثال فإن تأشير حمض الجسمونيك JA مسئول عن إنتاج المواد المتطايرة المحفزة استجابة للتلف بواسطة الديدان بينما أن كلا JA , SA تعول الاستجابة ضد ضرر العنكبوت الأحمر . في أنواع نباتية أخرى مثل ميديكاجو ترانكاتيولا تقوم الديدان والعناكب الحمراء بالتحفيز الكمي والنوعي لنظم المواد المتطايرة المختلفة . كلا حمض الجسمونيك وحمض السلسليك تتراكم استجابة للضرر ولكن التراكم يختلف بين الهجوم بالحشرات القارضة والثاقبة الماصة . لقد وجد أن تراكم SA كان عالياً استجابة للإصابة بالعنكبوت الأحمر بالمقارنة بالضرر الذي تحدثه الديدان بينما تراكم حمض الجسمونيك يختلف في التوقيت لكلا طريقة الهجوم . على نفس المنوال فإن التغيرات المحفزة في التعبير الجيني في نبات أرابيدوبسيس ثاليانا أظهرت اختلافات بين نظم التغذية . أظهرت خمسة مهاجمات ذات طرق مختلفة للهجوم تتراوح من آكلات الأوراق القارضة وحتى الممرضات التي تسبب مواضع نكرزة درجات مختلفة من التحفيز النسبي للمسارات الثلاثة الهامة لنقل التأشير . بوجه عام يبدو أن استجابة النباتات لآكلات النباتات التي تتغذى على عصارة اللحاء مشابهة كثيراً لاستجابة الهجوم بالمرضات بينما آكلات النباتات قارضة الأوراق تحفز المسارات وتنشط بحدوث الجروح .

٢-٣- الجروح الميكانيكية في مقابل هجوم آكلات النباتات Herbivory

عندما تهاجم آكلات النباتات تحدث تلف طبيعي وهي نفسها تحفز حزمة من الاستجابات ضد آكلات النباتات . فقد الماء عند موضع الجرح يؤدي إلى ضغط أسموزي ومن ثم يحدث تداخل واضح بين استجابات النباتات للجروح والجفاف بالإضافة إلى ذلك فإن استجابات النباتات للمركبات المشتقة من آكلات النباتات توجد في الإفرازات الفموية . التلف الطبيعي والمحفزات من آكلات النباتات كلاهما مسئول عن جزء من استجابة التحفيز النباتية لآكلات النباتات . في العديد من الأنواع النباتية فإن الاستجابة للضرر الميكانيكي تختلف عن تلك الناتجة من هجوم آكلات النباتات . قد يرجع هذا في جزء منه إلى الصعوبات التقنية في المحاكاة الدقيقة لما تحدثه آكلات النباتات . التلف الميكانيكي يختلف من التلف الذي تحدثه آكلات الأوراق في كمية النسيج المزال وعمر النسيج والنظام المكاني للتلف وتوقيت حدوث التلف . النظام الزمني أو المؤقت للتلف الميكانيكي في الحقيقة أظهر أنه عامل هام يؤثر على درجة التلف . عندما تستخدم قىء أكل النبات على الأوراق التالفة ميكانيكياً فإن استجابة النبات تكون مشابهة للاستجابة لأكل النبات . كمثال فإن التلف الميكانيكي من جراء المعاملة المتتالية بقىء الحشرات يحفز استجابات خاصة للنباتات نيكوتيناً أتينيوياً . العديد من المركبات الفعالة تم تعريفها في إفرازات الفم للحشرات المتغذية . كمثال الإنزيم بيتا - جلوكوسيديز وكذلك المركب Volicitin (ناتج اقتراني أو متحول من حمض دهني - حمض أميني وتختصر FAC) تحفز إنتاج المركبات المتطايرة عندما تضاف لنباتات الكرب والذرة التالفة ميكانيكياً على التوالي . لقد وجدت FAC في جميع يرقات رتبة حرشفية الأجنحة التي درست أخيراً . النباتات لا تستطيع تمييز الفروق بين الجروح الميكانيكية وما يحدث مع آكلات النباتات وكذلك بين أنواع آكلات النباتات المختلفة حتى لو كانت من نفس النظام الغذائي . لقد أتضح ذلك مع نبات N. Attenuate حيث اختلفت استجابة النبات لأكل نبات خاص عن الاستجابة لآكلات النباتات العامة وكانت اختلافات الاستجابة راجعة إلى تركيب FAC في قىء آكلات العشب . دور إفرازات الفم في تحفيز استجابات الدفاع النباتية نوقشت بالتفصيل بواسطة Felton .

الاختلاف بين التحفيز بعد التلف الميكانيكي وتلك الناجم من تغذية الديدان ظهر عند مستوى التعبير الجيني في نبات A.thalinana . التلف الميكانيكي وتغذية الديدان كلاهما يحفزان جينات الاستجابة بالجسمونات وتؤدي إلى تراكم حمض الجسمونيك . هذا ولو أن التلف الميكانيكي يحفز تعبير جين علامة الاستجابة الجسمونات PDF 1.2 بينما تغذية الديدان منخفض كذلك تحفيز هذا الجين . تحفيز جين الدفاع PDF 1.2 ينخفض كذلك عندما أضيف قىء الديدان على الأوراق التالفة ميكانيكياً مما يوضح الدور الذي تلعبه المحفزات قىء الديدان في تنظيم استجابات الدفاع النباتية . الجينات الثلاثة لاستجابة

حمض الجسمونيك تحفز بواسطة تغذية الديدان ولكنها لا تحفز بواسطة الجرح الميكانيكي مما يوضح كيف أن آكلات النباتات والجروح تحفز بشكل مختلف التعبير بالجينات الخاصة . في نباتات *A.thalinana* تزداد مستويات JA الداخلية بعد الجروح وتزداد أكثر عندما يستخدم إفراز الفم على الجروح . لقد لوحظ نفس النظام مع انبعاث الاثيلين في هذه النباتات. النباتات التالفة المثقبة التي عوملت بالإفراز الفمي تبعث بصفة مؤقتة كثير من الاثيلين عما هو الحال مع النباتات الثلاثة التي عوملت بالماء بينما انبعاث الاثيلين بمجرد هجوم آكلات النباتات يزداد طالما استمر أكل النبات في الهجوم والوجود .

٢-٤- التحضير Priming

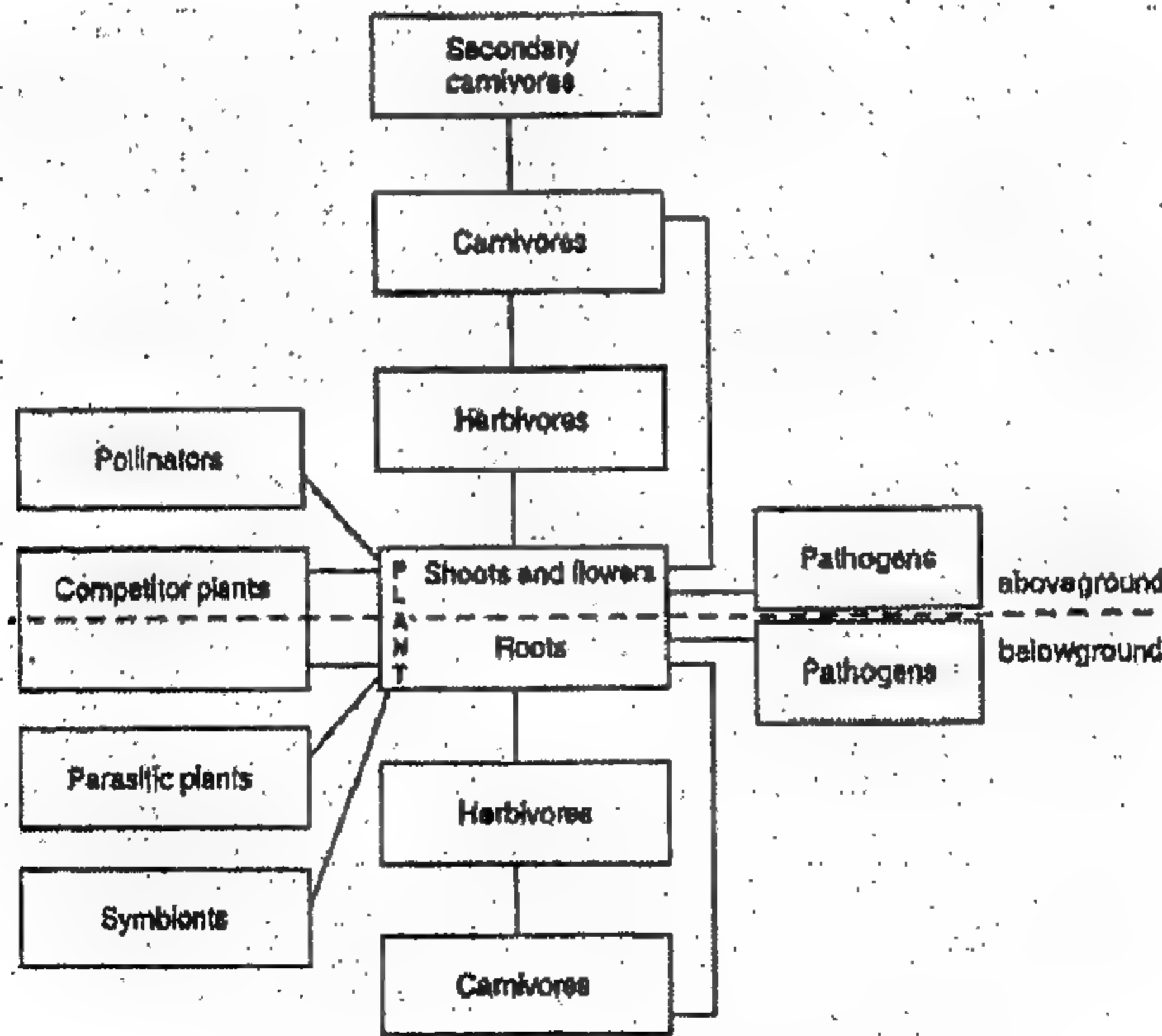
جزء من التنظيم العالى لسلاسل تأشير الدفاع أو التعبير الجيني يتمثل فى قابلية النبات للتنشيط السريع لاستجابات الدفاع الخلوية وهذه يمكن تحفيزها وهى العملية التى يطلق عليها التحضير . عندما يتعرض النبات لمنشط التحضير فإنه لا يستجيب على الفور لإنتاج مركبات الدفاع ولكنه يدخل فى حالة حساسية بما يسمح له بالاستجابة أسرع أو أقوى للتحديات المتتالية فى المستقبل . التحضير عرف فى الأصل مع الممرضات النباتية وبكتريا ريزوسفير النبات وتداخلاتها ويبدو أنها تمثل ميزة بالنظر لتكاليف التمثيل المرتبطة بالدفاع .

التحضير يمكن أن يحدث استجابة للمنشطات المختلفة مثل المواد المتطايرة النباتية والإصابة بمسببات الأمراض أو آكلات النباتات . التحضير للدفاعات غير المباشرة تأكدت مع انبعاث المواد المتطايرة المحفز كما هو الحال مع إفراز الرحيق EFN . التعرض للمواد المتطايرة من الأوراق الخضراء من النباتات التالفة المجاورة تؤدي إلى إنتاج مستويات عالية من حمض الجسمونيك JA والانبعاث العالى للمواد المتطايرة بمجرد حدوث التلف الميكانيكى أو هجوم آكلات النباتات بالمقارنة بالنباتات غير المعرضة . كذلك فإن استخدام المركبات الخارجية المنفردة مثل 3-(Z) hexenal , 1-01 hexane وكذلك 3-(Z) hexenyl acetate يمكن أن يحفز النباتات ناحية الاستجابات لهجوم آكلات النباتات . حديثاً أظهرت تجربة حقنة التحضير بواسطة إفراز الرحيق EFN . لقد تم تعريض نباتات فول اللبنة لمخلوط من المواد المتطايرة الصناعية تحاكي الانبعاثات الطبيعية للمواد المتطايرة من نباتات فول اللبنة المحفزة بآكلات النباتات . بمجرد حدوث الجروح تقوم هذه النباتات بإفراز رحيق أكثر بالمقارنة بالنباتات المقارنة غير المعرضة مما يوضح تأثير التحضير من جراء التعرض للمواد المتطايرة .

٣- استجابات أفراد الجماعة للدفاع غير المباشر المحفز فى النباتات :

كيميائيات المعلوماتية المحفزة بمجرد أن تنبعث أو تطلق من النباتات يمكن أن تستغل بواسطة أى فرد من الجماعة التى ينتمى إليها بما فيها النباتات المجاورة وآكلات النباتات

وأشباه الطفيليات والملقحات وغيرها من أفراد الجماعة سواء تحت أو فوق الأرض (الشكل ٢-٥) . كيميائيات المعلوماتية Infochemicals يمكن أن تصل كوسيلة دفاع مباشرة عن طريق طرد آكلات النباتات . كمثال فإن حشرات أوى دقيقات تتجنب وضع البيض على النباتات التي تحفز إما بواسطة وجود البيض أو التلف بسبب التغذية . المستويات العالية من وسائل الدفاع المباشر قد تطرد آكلات الأوراق من التغذية أو وضع البيض على النبات وقد تخفض من تطور اليرقات وجعلها أكثر عرضة للإصابة بالأعداء الطبيعية . هذا ولو أن ميكانيكيات الدفاع المباشر وغير المباشرة يمكن أن تعمل تضادياً . توكسينات النبات التي يتم تناولها بواسطة آكلات النباتات قد تكون معزولة كي تؤثر على تطور آكلات. اللحوم أو تؤثر سلباً على لياقة أكل اللحوم بسبب حجم العائل أو الجودة . المجاميع الطبيعية Senecio jacobaea تحقق تباين وراثي في تركيز بيروليزيديين الكالويد (PA) . النباتات المصابة بالمن والنمل والتي تأوى المن فيها مستويات منخفضة من PA عن النباتات غير المصابة بالمن وما يصاحبه من نمل . النمل يستطيع حماية النبات من حدوث التساقط الكلى ومن ثم يفيد النباتات في السنوات التي يكون فيها إجهاد عالي من آكلات الأوراق الخاصة Tyria jacobaeae بينما في السنوات التي فيها وفرة قليلة من هذه الحشرة فإن النباتات هذه قد تعاني من كثير من تكاليف لياقة من الإصابة بحشرات المن عن النباتات التي فيها مستويات عالية من PA . تأثير التحضير على أعضاء الجماعة الأخرى عما هو الحال مع آكلات النباتات وتعقيد تداخلاتها سوف تناقش فيما يلي :



شكل (٢-٥) : رسم توضيحي لتعقيد التداخلات تحت وفوق الأرض في جماعة متعددة المستويات الغذائية (الممرضات لأكلات النباتات ، أكلات اللحوم والملقحات لم تتضمن في هذه التداخلات)

٣-١- استجابة أفراد الجماعة للمستوى الثالث من التغذية

النباتات يمكن أن تستفيد من جراء اللياقة التي تكتسبها من أكلات اللحوم التي تهاجم أكلات النباتات . في هذا الوضع فإن أكلات النباتات تكون تحت ضغط غير واضح وتكون صغيرة بالمقارنة بالنباتات التي تتغذى عليها . بالتبعية فإن مفصليات الأرجل أكلات اللحوم تعتمد في الغالب على المشعرة من النباتات لوضع ضحاياها من أكلات النباتات . ومع هذا فإن المنشط المشتق من العائل يكون أكثر عقلانية وموضوعية لتحديد موقع العائل فإن استخداماتها تكون محدودة بسبب صغر الكمية التي يراد الكشف عنها خاصة مع المسافات البعيدة . لذلك فإن مفصليات الأرجل أكلات اللحوم في العادة تكون أكثر قوة في الانجذاب بواسطة المواد المتطايرة الصادرة من النباتات بالمقارنة بالمواد المتطايرة المشتقة من ضحاياها من أكلات النباتات . الانجذاب بواسطة المواد المتطايرة من نباتات العائل المصابة وبواسطة الرحيق EFN لوحظت مع بيض ويرقات أشباه الطفيليات والمفترسات . المستويات المحفزة من الرحيق يزيد كذلك من وفرة النمل والدبابير والحشرات الكاملة ومن ثم يقلل من كمية التلف .

المسار الأكبر لنقل الإشارات التي تتضمن في انجذاب الأعداء الطبيعية يبدو أنه مسار حمض الجسموني JA . اشتراك حمض الجسموني يحفز انجذاب أفراد المستوى الثالث من التغذية يحدث عن طريق كلا مناورة الحمض JA على مستوى الطرز المورفولوجي للنبات والطرز الوراثي للنبات . النباتات المعاملة بحمض الجسموني تجذب الأعداء الطبيعية لمفصليات الأرجل أكلات النباتات ومن ثم تزيد من معدلات التطفل في الحقل . بالإضافة إلى ذلك فإن النباتات التي تعاني من نقص الجسمونات أقل جذباً للأعداء الطبيعية عن نباتات المقارنة عندما تهاجم بواسطة أكلات النباتات .

٣-٢- استجابات أفراد المستويات الغذائية العالية

أعداء أكلات النباتات يمكن أن تصبح ضحية للأفراد من المستويات الغذائية الأعلى وكمثال أشباه فرط التطفل من رتبة غشائية الأجنحة يطلق عليها كذلك أشباه الطفيليات الثانوية . التغيرات المحفزة في كيمياء النبات تؤثر ليس فقط على تطور وبقاء أكلات النباتات وأشباه الطفيليات له ولكن على أشباه الطفيليات الثانوية . أداء شبيه فرط التطفل *Lysibia nana* مع مدى عريض من العوائل أتضح أنه يتأثر سلبياً بواسطة المستويات العالية من توكسينات الدفاع في النبات العائل . أشباه الطفيليات الثانوية في الغالب تقارن مع أشباه الطفيليات الأولية حيث أن كلاهما يتقاسمان استراتيجيات تاريخ الحياة الشائع .

هذا ولو أنه مقارنة بأشباه الطفيليات الأولية لا يعرف إلا القليل عن استراتيجياتها في البحث عن العائل وما إذا كانت أو لم تكن تستخدم المواد المتطايرة النباتية لوضع آكلات النباتات المتطفل عليها . الإشارات الصادرة من النباتات قد تكون ذات قيمة محدودة لأشباه فرط التطفل لأسباب عديدة . الأول ولو أن المواد المتطايرة النباتية المحفزة بواسطة أكل العشب قد تكون إشارات مقبولة عقلانية لأشباه الطفيليات الأولية إلا أنها لا تضمن وجود العائل المتطفل عليه لشبيه الطفيل الثانوى . السبب الثانى يتمثل فى أن أشباه الطفيليات الأولية فى الغالب تكون أكثر تخصصية عن أشباه الطفيليات الثانوية . بعد ذلك أظهرت الدراسات الحديثة أن أشباه الطفيليات الأولية فى الحقيقة تكون قادرة على التمييز والتفرقة بين المواد المتطايرة النباتية المحفزة بالإصابة بآكلات النبات والمنبعثة من النباتات التالفة بواسطة ديدان غير متطفل عليها أو متطفلة مما أدى إلى الاقتراح بأن الإشارات الصادرة من النباتات قد تكون ميسرة لأشباه الطفيليات الثانوية كذلك .

لقد أجريت دراسات عديدة عن سلوك أشباه الطفيليات الثانوية فى البحث عن العائل وأسفرت عن نتائج متباينة . شبيه الطفيل الخارجى المتخصص *Euneura augarus* تعتمد على المواد النباتية المتطايرة للبحث طویل المدى . هذا ولو أن هذا الطفيل لا يميز بين النباتات مع أو بدون جثث العائل للبحث على المدى الطویل . نوعى أشباه الطفيليات المفرطة *Alloxysta victrix* , *pendrocaru carpenteri* انجذبت إلى المواد المتطايرة المحفزة بآكلات النباتات (نباتات الشوفان المصابة بمنّ *Sitibion erenae* بينما فى دراسة أخرى على نظام شبيه الطفيل الأولى على العائل " بطاطس مصابة *M. euphorbia* ") لم تنجذب . لقد وجد الباحث *Buitenhuis* وآخرون (٢٠٠٥) اشتقاق فى سلوك السرح لأشباه الطفيليات الأولية والثانوية فى استخدام الإشارات الملائمة عند البحث على النبات . سلوك البحث عن العائل لأشباه الطفيليات المفرطة تعتمد أكثر على الإشارات الملامسة وأقل على المواد المتطايرة من النباتات بالمقارنة بأشباه الطفيليات الأولية .

٣-٣- استجابات الملقحات Pollinators

التكاثر الجنسى للعديد من أنواع النباتات يعتمد على التلقيح بواسطة نحل العسل والنحل الطنان والنحل الانفرادى وذباب السيرفيدى أو الفراشات . آكلات الأعشاب فى الأطوار المبكرة من نمو النبات تخفض من مساحة التمثيل الضوئى للنبات وهذا قد يؤدى إلى الحصول على نباتات أصغر وفترة تزهير أقصر . هذا ممكن الحدوث بسبب ترسيخ مصادر للدفاع عما هو ترسيخ مصادر للنمو والتكاثر . آكلات الأوراق قد تؤثر على إنتاج حبوب اللقاح والرحيق وجودة الرحيق ومورفولوجى الأزهار وقد تقلل من إنتاج البذور . كلا جودة وكمية الرحيق من المعايير التى تحدد عدد ونوع الملقحات التى تنجذب على النباتات . بينما من المعروف أن الرحيق الخارجى يزداد بعد هجوم آكلات الأوراق إلا أنه

يظل غير معروف ما إذا كانت آكلات الأوراق تؤثر كذلك على إنتاج الرحيق . قليل من الدراسات تناولت تأثير آكلات النباتات على كيمياء الأزهار . آكلات الأوراق على نباتات الدخان زادت من تركيز الالكالويد في الرحيق بينما أظهرت دراسات أخرى زيادة في مركبات الدفاع مثل النيكوتين والجلوكوسينولات في أنسجة الأزهار . من المثير للاهتمام ملاحظة أن مستويات نيكوتين نباتات الدخان في التوزيع تكون منخفضة في مرحلة الإظلام Scotophase عندما تتجذب الفراشات للقيام بعملية التلقيح .

ما زالت المعلومات المتوفرة عن تأثير آكلات النباتات على التلقيح قليلة . لقد أشارت العديد من الدراسات إلى التأثير المباشر لآكلات الأوراق على التلقيح . آكلات الأوراق قد تؤثر على صفات التزهير وكمثال تخفض من عدد الأزهار وحجم الأزهار وطول النبات . هذا قد يعود ويؤثر مرات زيادة الأزهار بواسطة الملقحات . لقد وجد أحد البحوث أن النحل يفضل نباتات الفجل السليمة عن التالفة وهذا الاختلاف يرجع إلى خفض حجم وعدد الأزهار . هذا ولو أن ذباب السيرفيدي يفضل النباتات السليمة عن التالفة حتى لو كانت النباتات يتحكم في حجم وعدد أزهارها مما يوضح الأساس الكيميائي لجذب ذباب السيرفيدي ولو أنه في هذه الحالة فإن الملقح يقل انجذابه إلا أن آكلات النباتات يمكن أن تزيد من انجذاب الملقح . آكلات الجذور النباتية كمثال تزيد من زيارات الأزهار كما لوحظ في نباتات الخردل ولو أن هذه الأمثلة تشير إلى تأثير آكلات النباتات على التلقيح إلا أن ميكانيكية حدوث ذلك ما زالت غير مؤكدة . من الممكن أن ذلك يرجع إلى التأثير على نمو النبات وعدد الأزهار والمواد المتطايرة النباتية أو التغير في كمية وجودة الرحيق وجميعها تحدد التغيرات في انجذاب الملقح .

٣-٤ - استجابات النباتات المجاورة

النباتات قد تكتسب لياقة من استجابتها للمواد المتطايرة المحفزة بواسطة آكلات النباتات من النباتات المجاورة التي هوجمت . هذه الإشارة دليل على حدوث ضرر أو تلف وشيك الحدوث وأن النبات المستقبل قد يستفيد من هذه المعلومة ويستعد للدفاع . الإشارات النباتية التي تحفز من هجوم آكلات النبات يمكن أن يستفاد منها بواسطة النباتات المجاورة من نفس النوع أو من أنواع مختلفة . الإشارات الشديدة قد تنشط دفاعات النبات على الفور بينما الإشارات الضعيفة قد تحضر النبات للهجوم . لقد ظهر ذلك بوضوح في دراسة حقلية أشارت إلى أن المواد المتطايرة النباتية من نبات Sagebrush التالفة تستطيع أن تحفز لتحفيز مثبطات البروتينيز في نباتات الدخان المجاورة . نباتات الدخان المحفزة تستقبل تلف أقل من هجوم آكلات الأوراق اللاحق بالمقارنة بالنباتات المقارنة غير المعرضة . ليست انبعاث المواد المتطايرة فقط ولكن إفراز الرحيق EFN كذلك يمكن أن تحضر بواسطة التعرض للمواد المتطايرة من النباتات التالفة . النباتات التي تعرضت للمواد المتطايرة من آكلات النباتات التي تصيب النباتات المرافقة الخاصة تنتج رحيق أكثر

EFN عندما تهاجم نفسها ولو أن هذا التأثير لوحظ فقط خلال المراحل المبكرة من هجوم آكلات النباتات .

٣-٥- التداخلات فوق وتحت الأرض

معظم الدراسات عن الدفاعات المحفزة ركزت على التداخلات فوق الأرض . هذا ولو أن التداخلات تحت الأرض يكون لها تأثيرات هامة مع العمليات التي تحدث فوق الأرض . كمثال فإن آكلات الجذور النباتية وذوات المنفعة المشتركة تحت الأرض مثل فطر الميكوريهيدزا تؤثر على التلقيح .

العمليات المشابهة لتلك التي سجلت في الحدوث فوق الأرض سجلت كذلك في الحدوث تحت الأرض . النباتات تستطيع تحويل أو انبعاث المواد المتطايرة استجابة لآكلات الجذور التي تجذب الأعداء الطبيعية لهذه الآكلات . لقد تمت الإشارة إلى هذه العلاقة بداية مع النباتات العوائل من العائلة الصنوبرية مثل *Thuja occidentalis* الذي عندما يتعرض ليرقات الخنافس يبعث كيميائيات جاذبة للنيماتودا التي تستطيع التطفل على اليرقات . لقد أوضح الباحث Rasmann وآخرون نفس الظاهرة مع نباتات الذرة وتم تعريف المادة الكيميائية التي تجذب النيماتودا الممرضة للحشرات *Heterorhabditis megidis* وهو العدد الطبيعي للخنافس المهاجمة . الإشارة من نبات آخر تحدث تحت الأرض . النباتات تبعث إشارات تحت الأرض تستغل بواسطة النباتات المجاورة لجذب المفترسات أو بواسطة النباتات المتطفلة لتحفيز الإنبات .

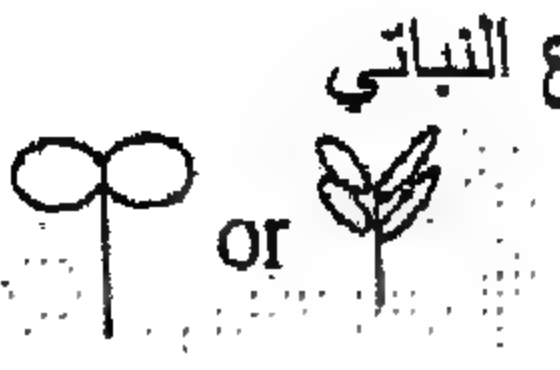
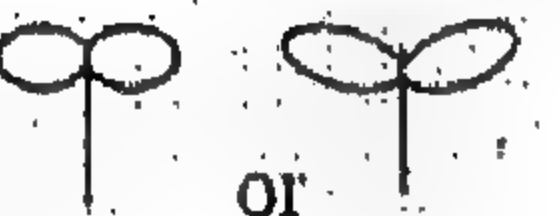
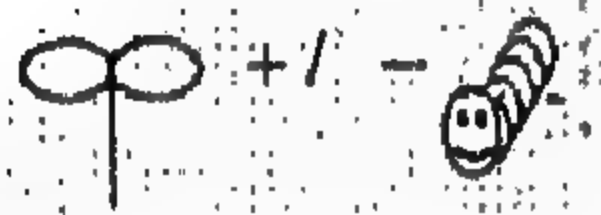
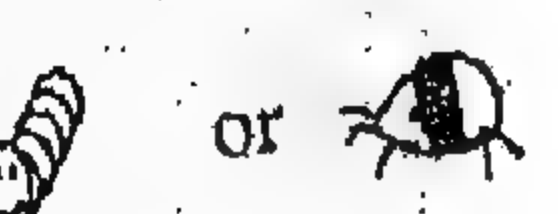
بالإضافة إلى التداخلات تحت الأرض يكون من الأهمية الأخذ في الاعتبار التداخلات بين المجتمعات فوق وتحت الأرض . نباتات القطن كمثال تزيد من إنتاج الرحيق بالفلورا فوق الأرض بمجرد هجوم الديدان السلوكية التي تتغذى على الجذور . آكلات الجذور النباتية وكذلك فطر أربوسكيول ميكروهيزال تستطيع انبعاث المواد المتطايرة فوق الأرض وما يستتبع ذلك من زيادة عدد الزيارات بواسطة أشباه الطفيليات لآكلات النباتات فوق الأرض . أداء الجماعة متعددة التغذية فوق الأرض المرتبطة بالنبات تختلف عن النباتات مع أو بدون أكل جذور النباتات . آكلات الجذور تغير من جودة النباتات وهذه بعد ذلك تؤثر سلباً على أداء أكل النبات فوق الأرض وهو شبيه الطفيل الأولى والثانوى . لقد وجد الباحث Bezemer ومعاونوه (٢٠٠٥) أن أداء المنّ انخفض بوجود النيماتودا أو الكائنات الدقيقة بينما أشباه طفيليات المنّ الأولية تأثرت إيجابياً بواسطة أفراد الجماعة تحت الأرض . أوضحت هذه الدراسات أن مجتمعات التربة تؤثر على التداخلات وأداء أنواع الكائنات فوق التربة من ذوات المستويات الغذائية المتعددة . لمعلوماتنا لا توجد دراسات تناولت إلقاء الضوء عن التأثيرات الممكنة لآكلات النباتات فوق الأرض .

٤ - الدفاع غير المباشر فى العالم المعقد والمتغير :

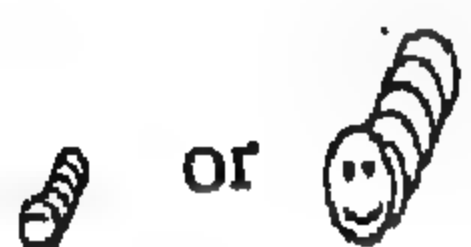



مخلوط المواد النباتية المتطايرة المحفزة يكون فى غاية التخصص . أشباه الطفيليات والمفترسات تستطيع التمييز بين المخاليط المحفزة من الأنواع النباتية المختلفة وأنواع آكلات النباتات (أو حتى أطوار وأكل النبات) وكذلك بين استجابات التغذية وتحفيز وضع البيض وكذلك بين التلف الموضعى والجهازى (جدول ٢-٣) . بينما معظم الدراسات تناولت فحص نظم بسيطة من الثلاثية التغذية التى تتكون من نبات واحد وأكل نبات واحد وواحد من أعدائه الطبيعية وفى الحقل فإن الكائن الحى يتداخل مع العديد من كثير من الأنواع . النباتات العوائل تصاب تكرارياً بأكثر من أكل نبات واحد . بالنسبة لحركات الجماعة يكون من الأهمية معرفة ما إذا كانت الكائنات الحية التى تستقر على النباتات التى تصور إشارات قادرة على التمييز بين الإشارات التى تشير إلى وجود عوائلها عما هو الحال مع الإشارات من غير العائل وغيرها من الروائح . لقد قام الباحث Shiojiri وآخرون (٢٠٠٢) بمقارنة سلوك البحث عن العائل لنوعين من الدبابير أشباه الطفيليات على النباتات العوائل المصابة بواحد أو اثنين من آكلات النباتات . واحد من أشباه الطفيليات *Cotesia plutellae* كان أكثر قوة فى الجذب للنباتات المصابة وحدها مع عائلها بينما شبيه الطفيل الآخر *Cotesia glomerata* يفضل النباتات مع كلا آكلات النباتات . بالتبعية فإن النبات المصاب بكلا آكلات النباتات يقدم مكان خالى من الأعداء لعائل *C. plutellae* (مثل *Plutella xylostella*) ومكان للعدو بكثافة للعائل لـ *C. glomerata* (وهو أبى دقيق الكرنب *Pieris rapae*) تفضيل وضع البيض لآكلات النباتات الكاملة ترتبط بهذا النظام بينما *P. xylostella* تفضل النباتات مع كلا آكلات النباتات ولم يظهر أبى دقيق الكرنب أى تفضيل . كمثال فإن *P. xylostella* تستفيد من التأثير الموجب غير المباشر (المقاومة المرافقة *Association resistance*) أو المقاومة المساعدة من خلال وجود أبى دقيق للكرنب . استجابات الدفاع لآكلات النباتات قد تتداخل مع تداخلات أخرى فى الجماعة مثل التلقيح . مع نباتات الدخان يوجد تعارض بين طرد آكلات النباتات وجذب الملقحات . كما ذكر قبلاً فإن هذه النباتات تخفض مستوى التوكسينات وتزيد من انبعاث جاذب الملقح بواسطة أزهارها فى المساء . عن هذا الطريق فإن الدخان يستطيع الدفاع عن نفسه ضد آكلات النباتات خلال النهار ويجذب الملقح فى الليل.

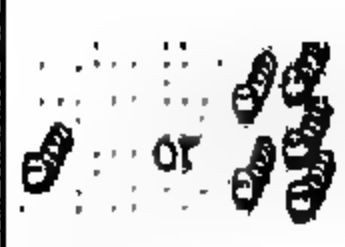
جدول (٢-٣) : انبعاث المواد المتطايرة النباتية تكون عالية التخصص فى الاستجابة لمختلف المواد المحفزة أو المنشطة

Plant volatiles differ depending on:	System	Result	References
Plant species	Tobacco, cotton	All three plant species emit	(De Moraes

	<p>and maize – <i>Heliothis virescens</i> and <i>Helicoverpa zea</i> – parasitic wasp <i>Caradiochiles nigriceps</i></p>	<p>different volatile blends in response to their attackers.</p>	<p>et al. 1998)</p>
<p>Plant cultivar</p> <p>الصنف النباتي</p> 	<p>Maize cultivars and wild relatives</p>	<p>The plant cultivars emitted qualitatively and quantitatively different volatile blends.</p>	<p>(Gouinguene et al. 2001)</p>
<p>Plant with or without host</p> <p>النبات مع أو بدون العائل</p>	<p>Maize <i>Zea mays</i> – beet armyworm <i>Spodoptera exigua</i> – <i>Cotesia marginiventris</i></p>	<p>Undamaged and herbivore-damaged plants differ in volatile emission and <i>C. marginiventris</i> can discriminate between the odor blends.</p>	<p>(Turlings et al. 1990)</p>
	<p>Pine – aphids – <i>Cinara pinea</i> – hyperparasitoid <i>Euneura augarus</i></p>	<p>Hyperparasitoid cannot discriminate at long range between plants with and without aphid mummies.</p>	<p>(Volk and Sullivan 2000)</p>
<p>Herbivore species</p> <p>نوع أكل العشب</p>	<p>Tobacco, cotton and maize – <i>Heliothis virescens</i> and <i>Helicoverpa zea</i> – parasitic wasp <i>Caardiochiles nigriceps</i></p>	<p>Plants produce herbivore-specific chemical signals and <i>C. nigriceps</i> females prefer host-infested over non-host-infested plants.</p>	<p>(De Moraes et al. 1998)</p>
	<p>Bean plants <i>Vicia faba</i> – host: pea aphid <i>Acyrtosiphon pisum</i>, non-host black bean aphid <i>Aphis fabae</i> – parasitoid</p>	<p>Host and non-host aphid induce different volatiles, <i>A. ervi</i> can discriminate between host-infested and non-host-infested plants.</p>	<p>(Du et al. 1996;1998)</p>

تابع جدول (٢-٣) : انبعاث المواد المتطايرة النباتية تكون عالية التخصص في الاستجابة لمختلف المواد المحفزة أو المنشطة

Plant volatiles differ depending on:	System	Result	References
Herbivore instar طور آكل العشب 	Maize <i>Zea mays</i> – common armyworm <i>Pseudaletia separata</i> – <i>Cotesia kariyai</i>	<i>C. kariyai</i> discriminates between undamaged plants and plants damaged by 1 st to 4 th instar larvae, but not by later instar larvae. And early and late instar larvae induce qualitatively and quantitatively different volatile blends	(Takabayashi et al. 1995)
Local or systemic induction التحفيز الجهازي الموضعي 	Lima bean <i>phaseolus lunatus</i> – spider mites <i>Tetranychus urticae</i> – predatory mites <i>Phytoseiulus persimilis</i>	Undamaged leaves of a spider mite-infested plant are induced to emit volatiles that attract the predators	(Dicke et al. 1990a)
Time since induction الوقت حتى التحفيز 	Brussels sprouts <i>Brassica oleracea</i> – large cabbage white <i>Pieris barassicae</i> – <i>Cotesia glomerata</i>	Brussels sprouts plant becomes attractive to <i>C. glomerata</i> 30 minutes after caterpillar infestation, reaches a maximum after 3 hours and then remains constant for at least 14 hours	(Scascighini et al. 2005)
Time of day الوقت من النهار 	Tobacco <i>Nicotiana tabacum</i> – moth <i>Heliothis virescens</i>	Difference in volatile emission during day and night, influences night-active herbivores	(De Moraes et al. 2001)

Infestation rate معدل الإصابة 	Field elm <i>Ulmus minor</i> - elm leaf beetle <i>Xanthogaleruca luteola</i>	Twigs with a low infestation rate are more attractive to beetles than uninfested or heavily infested twigs	(Meiners et al. 2005)
---	--	--	-----------------------

بينما تكون بعض أفراد الجماعة قادرة على التمييز بين مخاليط المركبات المتطايرة المختلفة فإن البعض الآخر لا يستطيع ذلك أو يستطيع ذلك بعد التعلم المرافق فقط . العديد من أنواع مفصليات الأرجل مثل الحشرات التالية *Phytoeiuulu persimilis* , *Coteia marginiventris* and *C. glomerata* تستطيع أن تتعلم مرافق بعض الروائح مع بعض المكاسب . التعلم للروائح المرافقة في وجود العائل أو الضحية قد يكون الطريق للمواكبة مع التغير في مخاليط المواد المتطايرة . تعلم مرافقات جديدة قد يأخذ بعض الوقت ويحتاج خبرات عديدة . في نفس الوقت فإن العائل أو الضحية قد تستفيد من عدم رؤيتها *Invisibility* للعدو الطبيعي بينما أشباه الطفيليات والمفترسات تضيق وقتها في البحث عن النباتات بدون عائلها أو ضحيتها . النظام المؤقت في التعلم للاستجابة لبعض مخاليط المواد المتطايرة وفقد الاستجابة لهذا التعلم سوف تؤثر على خطورة آكلات النباتات لتسليم الضحية لأعدائها الطبيعية . المأوى المؤقتة قد تثبت النظم المفترس - الضحية أو شبيه الطفيل - العائل ومن ثم تؤثر على حركية مجتمعات مفصليات الأرجل على النباتات (Vos et al., 2001 وكذلك Takabayashe et al., 2006) . للحصول على رؤية واضحة عن هذه التداخلات وثبات النظم البيئية فإن الدراسات الحقلية التي يتم فيها تغيير واحد من المكونات تقدم وسيلة هامة لبحث التأثير على الجماعة .

٥- مناورة الدفاع النباتي غير المباشر Manipulation

لبحث تأثير الدفاعات غير المباشرة ومكوناتها يكون من المفيد إتباع اقتراب المناورة . المناورة بالاستجابات الدفاعية تقدم معلوماتية عن كلا ميكانيكيات الدفاع النباتي والتتابعات الايكولوجية للتغيرات في فينولوجية النبات . فيما يلي نتناول بالشرح بعض من اقترابات المناورة .

٥-١- الشذى بالمركبات الفردية

يمكن عمل تغيير بسيط في فينولوجية النبات عن طريق إضافة مركب منفرد إلى النبات السليم غير التالف . هذه الطريقة تسمح باختيار أهمية المركبات الفردية في الجذب وكمثال المفترسات وأشباه الطفيليات للنبات ضد الروائح الطبيعية (Dicke et al., 2006) حتى مفصليات الأرجل آكلات اللحوم في العادة تتجذب لمخاليط معقدة من الروائح ولقد سجل زيادة انجذاب آكلات اللحوم بسبب إضافة مركبات فردية بهذه الطريقة . كذلك فإنه

فى الدراسة الحقلية أدت إضافة مركب لينالول إلى نباتات *N.attenuata* إلى زيادة افتراس بيض آكلات الأوراق واليرقات ونقص وضع البيض بواسطة آكل النبات .

٥-٢- التجزئة والترشيح

المناورة بالطرز الفينولوجى لمخاليط المواد المتطايرة يمكن تحقيقها باستخدام المرشحات لجمع المركبات ذات الخصائص الكيميائية الخاصة الاختيارية أو بواسطة التجزئة والقيام باختبار الأجزاء المختلفة من المخلوط لمعرفة نشاطه البيولوجى . بالمقارنة باختبار المركبات المنفردة فإن هذه الطرق تملك ميزة الحفاظ على نسب المواد المتطايرة المختلفة كما هى موجودة فى مخلوط المواد المتطايرة المحفزة بأكل العشب . يمكن استخدام المرشحات لإزالة واحد أو أكثر من المركبات والتي يشك فى أن لها نشاط بيولوجى من بين مخلوط المواد المتطايرة جميعاً . حينئذ يكون من الممكن اختبار أهميتها فى سلوك الحيوان فى تجارب قياس الشم . بهذه الطريقة أتضح أن الإزالة الاختيارية لأكثر المواد النباتية تطايراً باستخدام مرشحات السليكا تنقص من انجاذبية مخلوط المواد المتطايرة للدبور شبيه الطفيل *C.marginiventris* وليس لشبيه الطفيل الآخر *Microplitis rufiventris* . هذه الدراسة أوضحت كيف أن الترشيح يمكن أن يستخدم كوسيلة لإيجاد المواد المتطايرة وثيقة الصلة إيكولوجياً للأنواع المختلفة على جميع المستويات الغذائية باستخدام مختلف مواد الأدمصاص لغرض التجزئة فإن مخلوط المركبات الدفاعية يمكن اصطياده على مادة الأدمصاص ومن ثم يمكن استرجاعه بواسطة التحرير الكيميائى أو الحرارى . التجزئ واختبار الأجزاء المختلفة لمعرفة نشاطها البيولوجى يقدم وسيلة مفيدة لتعريف المركبات المشتركة فى الدفاع غير المباشر .

٥-٣- التحور الوراثى

يوجد طريق آخر للمناورة بالدفاعات المحفزة فى النباتات يتمثل فى التحور الوراثى لمسارات نقل الإشارات أو استنساخ التأشير أو مسارات التخليق الحيوى . النباتات المحورة بعناية التى تختلف فى جين منفرد يمكن مقارنتها بالنباتات البرية للحصول على معرفة أكثر عن ميكانيكيات الدفاع المحفز والتأثيرات الإيكولوجية الناتجة . هذا ولو أن النباتات المتطابقة يمكن أن تحفز بواسطة أكل العشب والاختلافات بين النوع البرى والطفرة يمكن أن تدرس على مستويات التعبير الجينى وإنتاج المواد المتطايرة واستجابة النبات مع الجماعة المرتبطة به . هذا الاقتراب محدود بسبب تيسر النباتات المحورة . مع بعض الأنواع مثل *A.thaliana* توجد أصناف عريضة من النباتات المطفرة والمهندسة وراثياً متاحة . التحور الوراثى وسيلة ممتازة لدراسة الارتباط الإيكولوجى للمركبات الفردية التى يصعب الحصول عليها بالتخليق . كمثال نباتات أرابيدوسيس السليمة غير التالفة المتحولة مع إنزيم تربين سينسيز من الفراولة تنتج التربينويدز ٨,٤ - دايمثيل - ٣,١ (E) V6 - نوناتربين و (E) نيروليدول والتي تؤدي إلى جذب الأكاروسات

المفترسة . هذا ولو أن نباتات ارابيدوبسيس له محدودياته حيث يكون له فينولوجية مبكرة جداً وبالتبعية تداخل محدود مع الكائنات المرتبطة به كنموذج لدراسة ايكولوجى الجماعة .

نباتات N.atranuata المهندسة وراثياً والمحورة فى مسار النسخ الإشارى أوكتا ديكانويد استقبلت آكلات نباتات أكثر وكثير من أنواع آكلات النباتات عما هو الحال مع نباتات المقارنة من النوع البرى . على نفس المنوال فإن طفرة def-1 فى الطماطم تعانى من نقص تراكم حمض الجسمونيك خلال التطفير فى مسار حمض الجسمونيك JA . نتيجة لذلك فإن النباتات تنتج مخلوط غير كامل من المواد المتطايرة استجابة للتلف بواسطة آكلات العشب والأعداء الطبيعية لآكلات العشب لا تستطيع التمييز بين مخاليط المواد المتطايرة من النباتات المحفزة وغير المحفزة . هذا ولو أنه مع العديد من النظم الطفرية الايكولوجية أو النباتات المحورة وراثياً غير ميسرة فى الوقت الحالى .

٥-٤- المحفزات والمثبطات الكيميائية

مسارات التحول الإشاري ومسارات التخليق الحيوي يمكن أن يناور بها خلال استخدام محفزات أو مثبطات خاصة . عن طريق التحفيز الصناعي أو تثبيط خطوات مختلفة من مسارات التأشير يصبح في الإمكان دراسة التداخلات الايكولوجية عند المستويات الغذائية المختلفة أو في المجتمع أو الجماعة كلها . مخلوط المواد المتطايرة المنبعثة من النباتات يمكن المناورة بها بواسطة التدخل مع مسارات نسخ أو نقل الإشارة كما أن أهمية كل خطوة يمكن دراستها بواسطة التنشيط أو الإيقاف الخاص للإنزيمات كل في مساره . عندما تقدم هذه المخاليط المتغيرة إلى (أفراد) مجتمع الحشرة فإنها تقدم رؤية عن الارتباط الايكولوجي الوثيق لهذه المسارات .

المحفزات التي حظيت بأكثر دراسات واختبارات حتى الآن هي الهورمون النباتي حمض الجسمونيك والميثيل استر الخاص به وكذلك ميثيل جسمونات (Me JA) . أتضح أن هذه المحفزات تلعب دوراً هاماً في تحفيز الدفاع في العديد من الأنواع النباتية ضد مدى واسع من آكلات النباتات . حمض الجسمونيك يحفز انبعاث مخاليط المواد المتطايرة كما يحدث مع التحفيز بواسطة التلف من هجوم آكلات النباتات وبينما تتأثر آكلات النباتات سلبياً بشكل نسبي إلا أن مفصليات الأرجل من آكلات اللحوم تتجذب للنباتات التي تم تحفيزها بواسطة حامض الجسمونيك والميثيل جسمونات . مع العديد من المحفزات الأخرى والهورمونات النباتية مثل ميثيل ساليسيلات وحمض لينولينيك و OPDA والبيتا - جلوكوسيديز ، سيلولوليسين ، الاميثسين أظهرت دراسات مشابهة تأثيراتها على أفراد المجتمع . من المميزات لاستخدام المحفزات أو المنبهات إمكانية تطبيق جرعة معينة على أجزاء نباتية معينة بينما من المستحيل عملياً السيطرة على كمية الضرر الذي يحدث بواسطة الحشرات أو أية وسائل حيوية أخرى . هذا ولو أنه من غير السهولة ربط الجرعة التي تستخدم خارجياً مع التركيزات بين الخلوية وتأثيراتها .

هناك بعض المثبطات الخاصة ولو أنها لا تستخدم كثيراً كمحفزات أو منبهات إلا أنها مناسبة لمعرفة أهمية الخطوات المختلفة في مسارات نسخ أو نقل الإشارات كذلك . هذا ولو أن تراكم المواد الوسيطة في المسار قبل خطوة التثبيط مباشرة يسبب تأثيرات جانبية فسيولوجية . استخدام المثبطات أظهر أهمية الخطوات المبكرة في مسار أوكتاديكانويد لانبعاث المواد المتطايرة في قول اللبما (جدول ٢-٣) . الفينيدون كمثال يثبط نشاط ليبوكسي جينيز مما يؤدي إلى إنتاج غير كامل لمخاليط المواد المتطايرة ويخفض إفراز الرحيق EFN مما يوضح أهمية هذه الخطوة المبكرة في مسار أوكتاديكانويد لاستجابات الدفاعات غير المباشرة .

٦- من المعمل للحقل From Lab to the Field

للحصول على رؤية عن إيكولوجى الدفاعات المحفزة تصبح الدراسات الحقلية التى تشمل إدخال تعقيدات النظم البيئية الطبيعية لا مفر منها . المتأورة خلال إحدى الطرق التى وصفت أعلاه قد تسهل البحث عن تأثيرات الدفاع المحفز غير المباشر على التداخلات بين أفراد المجتمع وثبات النظام .

معظم الدراسات التى تناولت الدفاع المحفز فى النباتات عبارة عن دراسات معملية تناولت نظم بسيطة من نوع نباتى واحد وأكل نبات واحد وأعدادها الطبيعية . هذا يقدم رؤية تفصيلية عن تأثيرات الدفاعات المحفزة على التداخلات الفردية . خلال الدراسات فى الصوب الزراعية والنصف حقلية مع خطوات أكثر تعقيداً وكمثال عن طريق إدخال الروائح المعروفة تحت ظروف متحكم فيها مع رؤية أكثر تكتسب فى المواقف الحقلية . ولو أنه ولكى تستخدم المعلومات المتحصل عليها من هذه الدراسات فإن الأهمية النسبية لهذه المعلومات سوف تقيم فى الحقل . كذلك فإن المكافحة الحيوية فى الحقول الزراعية قد تستفيد من هذه المعلومات وتتفهم التداخلات متعددة المستويات الغذائية فى الحقل .

٦-١- النظم البيئية الطبيعية Natural Ecosystems

لدراسة إيكولوجية الاستجابات النباتية المحفزة بأكلات النبات يكون من الضرورى أخذ النظم البيئية الطبيعية فى الاعتبار . كمثال فإن الاستجابات المحفزة بواسطة آكلات العشب فى الفجل البرى تزيد من لياقة النباتات فى البيئات الطبيعية . آكلات النباتات تزيد من كثافة الأشواك وبالتعبية تقلل من تفضيل وأداء العديد من آكلات النباتات . فعالية وكفاءة الدفاعات المحفزة كانت واضحة من الدراسات الحقلية على *N.attenuata* حيث حدث خفض فى آكلات العشب بأكثر من ٩٠% عن طريق إضافة مركبات الدفاع . فى دراسة لاحقة أوضح Kossler وآخرون (٢٠٠٦) أن المواد المتطايرة من نباتات المريحية تستطيع تحفيز الاستجابات فى ن - أئينيوواتا وتقلل من التلف بواسطة آكلات العشب للنباتات المعرضة . هذا ولو أنه بالرغم من استخدام المجاميع الطبيعية من ن . أئينيوواتا فإن الصلة الوثيقة لهذه الدراسة مازالت محل تساؤلات بسبب أن نباتات المريحية التى استخدمت للتخصير تحدث فى مراحل متتابعة مختلفة عن ن . أئينيوواتا . بالإضافة إلى ذلك فإن التأثير اكتشف على المدى القصير فقط عندما نمت النباتات فى نطاق ١٥ سم من كل منها .

فى مجاميع حشيشة اللبن التى تحدث طبيعياً وجد أن الإصابة بأكلات العشب فى بداية الموسم تؤثر على آكلات العشب خلال الموسم ومن ثم تؤثر على تركيب المجتمع أو الجماعة . فى المجتمع الطبيعى قام الباحث Agrawal (٢٠٠٤) بدراسة التداخلات المعقدة بين حشيشة اللبن والنجيل المنافس فى وجود أو غياب آكلات الجذور أو الأوراق . لقد

استنتج الباحث أن الاختلافات الوراثية والتنافس والإصابة بآكلات العشب تؤدي إلى تداخلات معقدة تسفر عن انتشار نشوء مرافق بين حشيشة اللين وآكلات العشب . لتحسين الفهم عن نشوء الدفاعات المحفزة ومقاومة آكلات العشب تحتاج لدراسات حقلية أكثر .

استخدام المحفزات أو المنبهات في الحقل يقدم معلوماتية عن المسارات الايكولوجية وثيقة الصلة وبعض الخطوات الجارية . كمثال فإن استخدام حمض الجسمونيك على نباتات الطماطم في الحقل تزيد من تطفل آكلات العشب ومن ثم تظهر اشتراك التغيرات المحفزة بحمض الجسمونيك في انجذاب آكلات اللحوم . استخدام ميثيل جسمونات على نباتات الدخان أوضحت تكاليف الاستجابات المحفزة بالجسمونات . في البيئات مع الإجهاد من آكلات العشب تكون النباتات المحفزة تعاني أقل من هجوم آكلات العشب وتنتج بذور أكثر حيوية عن النباتات غير المحفزة . هذا ولو أن النباتات غير التالفة تنتج بذور أكثر عندما لا تحفز مقارنة بالنباتات التي تم تحفيزها بالجسمونات .

٦-٢- النظم الزراعية Agricultural systems

الدفاعات النباتية المحفزة تساعد في مكافحة الآفات في النظم الزراعية . انجذاب الأعداء الطبيعية لآكلات العشب للمحاصيل تساعد في مكافحة الآفات في الزراعة سواء في الحقول المكشوفة أو الصوب . لذلك فإن فهم الميكانيكيات المشتركة في الدفاعات النباتية والتتابعات في المجتمع المرتبط بالنبات تساعد في وقاية المحصول . المناورة قد تزيد من كفاءة الدفاعات النباتية عن طريق جذب الأعداء الطبيعية قبل أن تحدث تلف أو ضرر محسوس بواسطة آكلات العشب عن طريق منع التبويض بواسطة آكلات العشب . يمكن تحقيق ذلك عن طريق تحفيز النبات بواسطة الهرمونات النباتية مثل سيس - جسمون أو حمض الجسمونيك . هناك إمكانية أخرى تتمثل في استخدام المحاصيل المحورة وراثياً التي تنتج مخاليط من المواد المتطايرة التي تكون أكثر جذباً للمفترسات عن الطرز الجينية المستخدمة في الوقت الراهن . لقد تطورت هذه التكنولوجيا بالفعل بالرغم من تتابعات المجتمع فوق وتحت الأرض فإن التأثير على التداخلات بين أفراد المجتمعات المختلفة مازالت في حاجة للفهم والتفريق .

٧- المنظورية Perspectives

تأثيرات التغيرات الفينولوجية المرتبطة بالدفاع المحفز في النباتات على ديناميكيات المجتمع يصعب التنبؤ بها بسبب اشتراك العديد من النواحي والتباينات الكبيرة في استجابات النباتات . بينما تم دراسة العديد من التداخلات ثنائية وثلاثية المستويات الغذائية وتم التسليم بأن النباتات في الطبيعة في العادة تكون تحت هجوم مدى عريض من الكائنات الحية في نفس الوقت . كيف تؤثر هذه على دفاعات النباتات مازالت في مرحلة البداية أوضحت النتائج الأولية أن التأثيرات قد تزداد أو تنقص مع شدة الدفاع .

ولو أن معظم الدراسات ركزت على العمليات فوق سطح الأرض فإن تأثير التغيرات في الطرز الفينولوجية النباتية غير محدودة على المجتمع فوق الأرض . التداخلات فوق سطح الأرض تغير من إفرازات الجذور تحت الأرض ومن ثم تؤثر على مجتمع التربة والتلف تحت الأرض يؤثر على الدفاع غير المباشر فوق الأرض . العكس ولو أن تأثير التداخلات فوق الأرض على الدفاع غير المباشر تحت الأرض مازال لم يدرس . إدخال هذه التداخلات في الدراسات المستقبلية يحفز بشكل كبير على رؤيتنا لتأثيرات الدفاعات غير المباشرة المحفزة على وظائف المجتمعات المعقدة . بالإضافة إلى التداخلات بين النبات والممرض النباتي والتداخلات بين النبات واكل النبات فإن النباتات قد تكون تحت هجوم النباتات المتطفلة كذلك أو تتداخل مع الكائنات تكافلية المعيشة فوق سطح الأرض مثل ميكوريزا أو البكتريا تكافلية المعيشة . بالإضافة إلى ذلك فإن الكائنات داخلية التغذية فوق سطح الأرض تؤثر على الطرز الفينولوجي للدفاع وبالنبعية على التداخلات مع أفراد الجماعة كذلك . إدخال هذه التداخلات في دراسات الدفاع غير المباشر للنباتات في اقتراب ايكولوجية الجماعة سوف يزيد من التعقيد ولذلك فإن عمل ذلك يكون ضروري للحصول على فهم واعى عن تأثيرات الدفاع النباتي غير المباشر على ايكولوجية النبات .

من المجالات البحثية الأخرى التي لم تلقى الاهتمام تلك التي تتمثل في سلوك بحث الأفراد للمستويات الغذائية العالية مثل أشباه الطفيليات المفترسة . كيف تجد هذه أشباه الطفيليات عائلها وما إذا كانت تستخدم الإشارات النباتية أم لا مازالت غير معروفة . نفس الاستخدامات للملقحات نفذت ولو أن بعض التأثيرات لأكلات النباتات على التلقيح سجلت .

قائمة المراجع

References

- Adler LS, Karban R, Strauss SY (2001) Direct and indirect effects of alkaloids on plant fitness via herbivory and pollination. *Ecology* 82:2032-2044
- Baldwin IT (1990) Herbivory simulations in ecological research. *Trends Ecol Evol* 5:91-93
- Cardoza YJ, Tumlinson JH (2006) Compatible and incompatible *Xanthomonas* infections differentially affect herbivore-induced volatile emission by pepper plants. *J Chem Ecol* 32:1755-1768
- D'Alessandro M, Turlings TCJ (2006) Advances and challenges in the identification of volatiles that mediate interactions among plants and arthropods. *Analyst* 131:24-32
- Engelberth J, Alborn HT, Schmelz EA, Tumlinson JH (2004) Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. *Proc Natl Acad USA* 101:1781-1785

- Fatouros NE, Van Loon JJA, Hordijk KA, Smid HM, Dicke M (2005) Herbivore-induced plant volatiles mediate in-flight host discrimination by parasitoids. *J Chem Ecol* 31:2033-2047
- Gange AC, Stagg PG, Ward LK (2002) Arbuscular mycorrhizal fungi affect phytophagous insect specialism. *Ecol Lett* 5:11-15
- Hambäck PA (2001) Direct and indirect effects of herbivory: feeding by spittlebugs affects pollinator visitation rates and seedset of *Rudbeckia hirta*. 8:45-50
- Janssen A (1999) Plants with spider-mite prey attract more predatory mites than clean plants under greenhouse conditions. *Entomol Exp Appl* 90:191-198
- Kahl J, Siemens DH, Aerts RJ, Gabler R, Kuhnemann F, Preston CA, Baldwin IT (2000) Herbivore-induced ethylene suppresses a direct defense but not a putative indirect defense against an adapted herbivore. *Planta* 210:336-342
- Landolt PJ (1993) Effects of host plant leaf damage on cabbage looper moth attraction and oviposition. *Entomol Exp Appl* 67:79-85
- Masters GJ, Jones TH, Rogers M (2001) Host-plant mediated effects of root herbivory on insect seed predators and their parasitoids. *Oecologia* 127:246-250
- Narvaez-Vasquez J, Florin-Christensen J, Ryan CA (1999) Positional specificity of a phospholipase A activity induced by wounding, systemin, and oligosaccharide elicitors in tomato leaves. *Plant Cell* 11:2249-2260
- O'Donnell PJ, Calvert C, Atzorn R, Wasternack C, Leyser HMO, Bowles DJ (1996) Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. *Science* 274:1914-1917
- Pena-Cortes H, Albrecht T, Prat S, Weiler EW, Willmitzer L (1993) Aspirin prevents wound-induced gene-expression in tomato leaves by blocking jasmonic acid biosynthesis. *Planta* 191:123-128
- Rasman S, Kollner TG, Degenhardt J, Hiltpold I, Toepfer S, Kuhlmann U, Gershenzon J, Turlings TCJ (2005) Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature* 434:732-737
- Sano H, Ohashi Y (1995) Involvement of small GTP-binding proteins in defense signal transduction pathways of higher plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:4138-4144

- Takabayashi J, Takahashi S, Dicke M, Posthumus MA (1995) Development stage of herbivore *Pseudaletia separate* affects production of herbivore-induced synomone by corn plants. J Chem Ecol 21:273-287
- Van Darn NM, Hadwich K, Baldwin IT (2000) Induced responses in *Nicotiana attenuate* affect behavior and growth of the specialist herbivore *Manduca sexta*. Oecologia 122:371-379
- Vrieling K, Smit W, Van der Meijden E (1991) Tritrophic interactions between aphids (*Aphis jacobaeae* Schrank), ant species, *Tyria jacobaeae* L., and *Senecio jacobaea* L. lead to maintenance of genetic variation in pyrrolizidine alkaloid concentration. Oecologia 86:177-182
- Wackers FL, Bezemer TM (2003) Root herbivory induces an above-ground indirect defence. Ecol Lett 6:9-12
- Walling LL (2000) The myriad plant responses to herbivores. J Plant Growth Regul 19:195-216
- Zheng S-J, Van Dijk J, Bruinsma M, Dicke M (2007) Sensitivity and speed of induced defense of cabbage (*Brassica oleracea* L.): dynamics of BoLOX expression patterns during insect and pathogen attack. Mol Plant Micr Int 20:1332-1345

الباب الثالث

الدفاعات المحفزة في النباتات ونموذج العلاقة بين التكلفة والفائدة

تكاليف الدفاع يظن أنها السبب في التحفيز حيث تؤخذ التكاليف في الاعتبار فقط عندما يكون الدفاع مطلوباً . ترتفع التكاليف عندما تخصص الموارد لتحقيق الدفاعات وما يستتبع ذلك من عدم تيسرها للنمو والتكاثر ومن الدمار التي يجب على الدفاعات أن تحبطه عن طريق التمثيل الأولي أو مقدرة النبات على الاستجابة باجتهادات أخرى ومن التلّف الذي يتسبب بواسطة آكلات النباتات التي تم شحذ قدرتها على مقاومة الدفاعات النباتية بواسطة التعبير الأساسي للدفاع . لذلك فإن نموذج العلاقة بين التكلفة – الفائدة لا يلقى القبول بشكل عريض والدليل الرياضي مهلهل . تجارب الإثارة Elicitation التي توضح تتابعات اللياقة لاستجابات الدفاع المنشط مع المثبرات قدمت في البداية دليلاً لا يقبل الجدل ولكن في هذه الدراسات فإن حل التكاليف للاستجابات مرافقة التنظيم غير ممكنة . الوراثة الكمية تربط التغيرات في المقاومة مع اللياقة بين الطرز الوراثة أو الجينية المختلفة ولكن الصفات أو الخصائص المرتبطة بالدفاع يمكن أن ترتبط وراثياً مع صفات أخرى لا علاقة لها بالدفاع . دراسات الطفرية والتحول تقدم الدليل الأقوى للعلاقة بين التكلفة والفوائد تجارياً لأن التأثيرات الفظيعة للارتباط الوراثة تقل في الخطوط مساوية الجين . بالإضافة للارتباط الوراثة فإن الدفاعات ترتبط بنواحي أخرى للتمثيل الأولي والثانوي ووظائف الدفاع يمكن أن تتغير بواسطة نواتج تمثيل أخرى . الارتباط المتنوعة فيما بين الاستجابات لآكلات النباتات مع تعقيدات العوامل الخارجية والداخلية التي تؤثر على لياقة النبات أدت إلى الاقتراح أن وظائف العلاقة بين التكلفة والفائدة تفحص جيداً عندما تغير اتجاهها إلى فراغ أو مكان متعدد الاتجاهات أو الأبعاد المقرونة بواسطة الظروف البيئية . التقدم المنهجي وفي الطرق تسمح بالربط مع شبكة التمثيل التي تشكل الطرز الفينولوجية وتجعلها واضحة وكذلك لاثبات زيف فرضية عدم التعامل تجارياً .

I.T. Baldwin

Max Planck Institute for Chemical Ecology , Department of Molecular Ecology , D-07745 Jena , Germany .

e-mail : Baldwin@ice.mpg.de

A. Schaller (ed.), Induced plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١ - مقدمة

النباتات تستخدم الدفاعات الكيميائية لحماية أنفسهم من هجوم الأنواع العديدة من آكلات النباتات ومسببات الأمراض . فى العديد من النباتات فإن الدفاعات الكيميائية عبارة عن تحفيز منتشر بمعنى أن إنتاجها وتراكمها يزداد بشكل مثير بعد الهجوم . نظم الإثارة المختلفة تسمح للنباتات لإثارة الدفاعات الأكثر كفاءة ضد مهاجمين خاصين (مثل الممرضات النباتية أو آكلات الأوراق ذات النظم المختلفة للتغذية) . لكن وبسبب فترة الراحة أو الخمود Time log بين الهجوم الأول وتنشيط الدفاع فإن النباتات تبقى غير محمية لساعات أو حتى أيام حتى يحفز وتعمل وسائل الدفاع الخاصة . السؤال الآن : لماذا تظل النباتات تحت هذا الخطر ؟ الميزة الاختيارية لصفات الدفاع المحفزة تركيبياً والتي ينقصها التأخير الضار تفسر بشيوع من خلال التكاليف العالية للدفاعات . بالتبعية فإن فائدة اللياقة لهذه التكاليف الجارية عندما لا تكون المقاومة مطلوبة قد تتخطى وتزيد عن عيوب التأخير .

الدفاعات لها تكاليف فسيولوجية وإيكولوجية ونشوية . التكاليف الفسيولوجية تتضمن الحصة والسمية الذاتية Autotoxicity . تكاليف الحصة Allocation تحدث عندما تكون اللياقة مع الموارد المحدودة مشاركة بشكل كبير فى الدفاعات والتي قد لا يسهل تدويرها ومن ثم تكون غير متاحة للعمليات وثيقة الصلة باللياقة مثل التطور أو التكاثر . تكاليف السمية الذاتية قد تحدث بسبب أن بعض نواتج التمثيل الثانوية تكون سامة للنبات نفسه . تعبيراتها قد تفرض حمل تمثيل مؤثر . نواتج التمثيل السامة قد تكون مواد دفاعية فعالة ولكنها تمثل مسئولية قانونية للمنتج . لقد قامت النباتات بحل مشكلة دفن العوادم السامة المرتبطة بنشر الدفاع الكيميائى بواسطة تعزيز الدفاعات فى الأنسجة المستهدفة التى لا تحدث فى النباتات مثل الالكالويدز السامة عصبياً . التكاليف الايكولوجية تنتج من التأثيرات السالبة للياقة الخاصة بالدفاعات على التداخلات المعقدة التى لا تملكها مع بيئاتها . هذه التكاليف تتضمن المسئولية القانونية التى تنتج من إنتاج توكسينات التى تحجز بواسطة آكلات النباتات المتكيفة حيث تحميها من أعدائها الطبيعية . لكن التكاليف الايكولوجية قد تظهر على صورة تكاليف الفرصة Opportunity costs مما ينشط استجابة دفاع خاصة والتى تقوم بالتسوية فى تنشيط الدفاعات الأخرى وجها لوجه مع المهاجمين الآخرين أو استجابات التحمل التحفيزية قد تحجم من تكاليف النشوء بسبب أن الدفاعات المنتشرة قد تحقق ضغط انتخابى أقوى لآكلات النباتات كى تحدث مقاومة حقيقية . لقد خلص البحاث إلى أن الدفاعات المحفزة فى النباتات تزيد بدرجة كبيرة تعقيدات البيئات الكيميائية التى تعترض الأعداء الطبيعية على النباتات ومن ثم فإن خفض تكاليف النشوء هذه ذات أهمية كبيرة .

تكاليف التخصيص أو التوزيع المفترضة تلعب دوراً محورياً في النظريات التى تحاول تفسير نظم توزيع ناتج التمثيل الدفاعى داخل وبين النباتات ولكن فرضية أن الدفاعات تستلزم تكاليف توزيع كبيرة وهذه يصعب تقديرها رياضياً . النظرية المثلى للدفاع تنادى بأن توزيع ناتج التمثيل الخاصة بالدفاعات داخل النبات تعكس موازنة الفوائد من اللياقة العالية للنبات والاحتمالية العالية للهجوم التى تنتج فى جذور نباتات نيكوتيانا اتينيوواتا تتركز فى الأوراق الصغيرة والسيقان وأجزاء التكاثر بينما الجذور والأوراق العجوزة تحتوى على مستويات منخفضة . على نفس المنوال فإن توزيع الدفاعات المحفزة داخل المملكة النباتية يفسر عموماً بواسطة العلاقة بين التكلفة والفائدة المشتركة فى خصائص وصفات الدفاع . نظرية الظهور أو الوضوح Appearance theory تنبأ بأن النباتات بطيئة النمو ذات الأنسجة طويلة العمر والتى تهاجم بواسطة آكلات النباتات تستثمر أكثر فى الدفاعات بالمقارنة بالأنواع سريعة النمو ذات الأنسجة التى تعيش لفترة قصيرة والتى عندها ميل أكثر للهروب من آكلات النباتات . وهذه أنواع توائم لياقتها بواسطة التعبير عن دفاعاتها المحفزة حيث يتوقع أن تكون تكاليف الدفاع مرهقة وشاقة مع الأنواع النباتية سريعة النمو . تمشياً مع هذا التوقع فإن معظم الأنواع التى سجلت فيها مقاومة محفزة تنمو سريعاً . هناك نظريات أخرى مثل نظرية الاتزان بين الكربون / المادة المغذية (C / N) ونظرية المادة الوسيطة / الإنزيم ونظرية النمو / التفرق وهى محاولات لتفسير تحفيزية ناتج التمثيل الثانوية التى تحدث بشيوع بعد هجوم آكلات النباتات ولكنها لا تنتج من تنظيم يعال إشارياً للتمثيل الثانوى من منطلق تيسر المادة الغذائية أو الوسيط سواء داخل النبات أو خلال تطوره أو فى بيئته المحلية . هذه الفرضيات المدد - الجانبى توضح أن الزيادة فى ناتج التمثيل الثانوى التى يشيع حدوثها بعد هجوم آكلات النبات ولكن كنتاج غير مباشر للتغيرات فى الاتزان التمثلى الشامل . ولو أن هذه النظريات ذات قيمة منخفضة كنماذج ميكانيكية فإن المفاهيم التى تقع تحتها قد تساعد فى تفسير توزيع الدفاعات النباتية بالنظر لتكاليفها الموضوعية . كمثال فإن الدفاعات المرتبطة بتكثيف الكربون فى الحقيقة يميل للزيادة عندما توجد تحديات فى النمو بسبب محدودية المادة المغذية والتى يعتقد أنها تجعل الكربون أكثر تيسراً عن المسود الغذائية الأخرى . هذا ولو أن هذه التغيرات تنتج أيضاً من الاستجابات المتكيفة بواسطة النبات للظروف التى تخفى إحلال الأنسجة النافذة .

السمة الرسمية للتكاليف الايكولوجية تتمثل فى الاحتمالات البيئية غير المتوقعة والتى يمكن ملاحظتها فقط فى بيئات خاصة . التكاليف الايكولوجية قد تنتج من الفرق بين المقاومة والحساسية للأعداء الطبيعية المختلفة وتبادل المنفعة وبين المقاومة والتحمل لآكلات النباتات أو بين المقاومة لآكلات العشب والتأثيرات الناتجة على التنافسية النباتية . الأخيرة تمثل عن طريق حقيقة أن التكاليف الموضوعية الكبيرة يمكن ملاحظتها فقط عندما تنمو النباتات مع متنافسين من النوع ذاته وليس بدونه . الفرق بين المقاومة والحساسية

للأعداء الطبيعية المختلفة قد تكون ذات أهمية خاصة لبعض الدفاعات غير المباشرة مثل إطلاق إشارات من المواد المتطايرة تحذيرية لجذب كائنات المستوى الغذائي الثالث والذي اتضح أنه في نباتات نيكوتينيا أتينيواتا نظام دفاع فعال استثنائي يمكن أن يخفض من وفرة آكلات النباتات حتى ٩٠% . ولو أن هذه الاستثمارات الصغيرة في المركبات العضوية المتطايرة (VOCs) تمثل لأنفاق تكاليف موضوعة قليلة فإن إطلاق المواد المتطايرة قد يزيد من ظهور النباتات إذا قامت آكلات النباتات باختيار المواد المتطايرة VOC's كإشارات خلال السرحان لإيجاد العوائل . بالإضافة لذلك فإن التحفيز المترامن للدفاعات المباشرة وغير المباشرة قد تحدث تكاليف إيكولوجية وكمثال الدفاع المباشر السام قد يحدث سمية على الكائنات الحية ذات المستوى الغذائي الثالث والتي تتجذب بواسطة إطلاق المواد المتطايرة . لقد وجد أن أشباه الطفيليات تتجذب للمواد العضوية المتطايرة VOC's التي تحفز بواسطة هجوم آكلات النباتات ولكن حيث أن هذه المفترسات تقضى طورها اليرقي في هيموليمف عوائلها فإنها تتعرض لجميع التوكسينات التي تنتجها النباتات والتي يتم تناولها بواسطة أكل النبات . كمثال دودة الدخان ماندوكاسيكستا تتغذى على أنواع نيكوتينانا المعروف أنها تحفز إطلاق VOC's ومستويات عالية من النيكوتين . M. sexta تبقى كميات من التوكسين في الهيموليمف بدرجة تكفى لإحداث الموت للدبور شبيه الطفيل الخاصة بها وهو كوتيسيا كونجر يجاتا . ولو أن إطلاق المواد المتطايرة المحفزة بواسطة آكلات النباتات تأكدت أنها تقوم بجذب أشباه الطفيليات في العديد من الدراسات العملية إلا أن دورها في الدفاع النباتي نادراً ما تحقق في كثير من دول العالم . أهمية هذه التكاليف الإيكولوجية في التأثير على اللياقة للاستجابة المحفزة كبيرة جداً مما يقلل من أهمية اختيار نموذج التكلفة - الفائدة تحت الظروف البيئية الواقعية .

٢- دليل التكاليف الخاصة بالدفاع Defense Costs

٢-١- أنواع الدراسة

نموذج العلاقة بين التكلفة - الفائدة وأساس معظم النظريات حول نشوء الدفاعات النباتية يصعب اختيارها بداية بسبب تعقيدات العمليات الداخلية والخارجية التي تؤثر على دور الخصائص الدفاعية في تعزيز وظائف التكاثر في الذكور و / أو الإناث . ثانياً أن تكاليف خصائص الدفاع يجب أن تفصل عن الصفات المرتبطة بالوراثة . الدليل الأكثر قبولاً يتمثل في أن تكاليف اللياقة الحقيقية في الدفاعات النباتية تنشأ من ثلاثة أنواع من الدراسات :

١- دراسات الإثارة التي تقيس تتابعات اللياقة للدفاعات المنشطة بواسطة استخدام جزئيات إشارية معروف عنها أنها تحفز الدفاعات .

٢- دراسات وراثية كمية التي تربط اللياقة مع التباين الوراثي في مستويات نواتج التمثيل الدفاعية داخل مجاميع النبات .

٣- دراسات الطفرية والتحولية التي تقيم تتابعات اللياقة النباتية التي تغيرت (تعبير فائق أو فقد وظيفي) في التعبير عن جينات خاصة .

٢-٢- دراسات الإثارة أو التحفيز Elicitation studies

معظم دراسات التكاليف حفزت إنتاج نواتج التمثيل الثانوية بواسطة الجروح أو هجوم آكلات اللحوم أو استخدام الجزئيات الإشارية التي تعول الاستجابات المحفزة ومقارنة لياقة وأداء هذه النباتات المحفزة مع نباتات المقارنة غير المحفزة . تغذية أكل النبات ولو أنها حقيقة بيولوجية إلا أنه يصعب جعلها قياسية وتكاليف الاستجابات المحفزة يصعب فصلها من تكاليف اللياقة الناتجة من تلف أو فقد النسيج . الجروح الميكانيكية التي تحفز المقاومة في معظم النباتات تمكن من السيطرة على التلف كمياً ونوعياً وبصفة مؤقتة . جروح التثقيب على وجه الخصوص تسمح باستمرار الفقد في مساحة الورقة عند حده الأدنى بينما يستمر فعال في تحفيز استجابات الدفاع . الدراسة الأولى التي كانت قادرة على تقدير تكاليف الدفاعات المحفزة استخدمت نظم تجريح مختلفة لتحفيز وإثارة استجابات النبات الدفاعية ولكنها جميعاً أدت إلى حدوث نفس الفقد في النسيج النباتي . هذا ولو أن الاستجابات التي تم تحفيزها بواسطة الجروح الميكانيكية لم تكن هي نفسها دائماً كذلك التي حفزت بواسطة تغذية آكلات النباتات .

حديثاً ازداد فهمنا للجزئيات الإشارية المختلفة التي تعول استجابات النبات الدفاعية مما يمكن من عدم دمج تكاليف الدفاع المحفز مع تكاليف فقد النسيج النباتي . حيث أن شلال التأشير بحمض الجسمونيك (JA) معروفة أنها تمول العديد من الاستجابات المحفزة بواسطة آكلات النباتات فإن دراسات عديدة عن تكاليف الاستجابات المحفزة استخدمت حمض الجسمونيك أو المثلل استر له لتحفيز وإثارة الاستجابات وهذا الاقتراب مكن من اختبار نموذج التكلفة - الفائدة في الطبيعة . فترة حياة إنتاج البذور في نباتات نيكوتينيا أتواتا المعاملة باستر مثلل الجسمونيك النامية في مجاميع طبيعية كانت أقل من تلك التي حدثت مع النباتات غير المعاملة إذا كانت آكلات النباتات غائبة . هذا ولو أنه عندما تعرضت النباتات لمستويات متوسطة أو عالية من آكلات النباتات زادت فوائد اللياقة عن تكاليف تحفيز حمض الجسمونيك . في الفجل البري قام الباحث Agrawal ومعاونوه (١٩٩٩) بتقدير تكاليف اللياقة لتحفيز حمض الجسمونيك ليس عن طريق العدد القليل أو الوزن القليل للبذور ولكن الوقت الذي يمر لظهور أول زهرة وكمية حبوب اللقاح المنتجة . ولو أن استخدامات حمض الجسمونيك لا تحاكي بوضوح الاستجابات لهجوم آكلات النباتات حيث أن هذا الهورمون النباتي يعمل ويؤدي وظيفة في اتجاه المحفزات الخاصة

لآكلات النباتات التي تنشط تأثير حمض الجسمونيك في نباتات نيكوتينا أتينيوأنا ومعروف أنه يتداخل مع جزئيات تأثيرية أخرى تحفز بآكلات النباتات خلال طرق ومسارات معقدة . بالإضافة إلى ذلك فإن المعاملات الخارجية لا تميل أو لا تقوم بمحاكاة واقعية لعمل تغيرات متكررة بشكل كبير في نسيج خاص أو تغيرات انتقالية في الحزمة الداخلية لجزئيات التأثير التي تحفز بواسطة هجوم آكلات النباتات .

تعريف المثيرات الخاصة لآكلات النباتات مثل مقترنات الحمض الدهني - الحمض الأميني (FAC's) في الإفرازات الفمية ليرقات حرشفية الأجنحة جعلت من الممكن تحفيز هذه الاستجابات النباتية التي تشابه كثيراً الاستجابات التي تثار أو تحفز بواسطة الهجوم الفعلي لآكلات النباتات . ولكن دراسات التحفيز في العادة غير قادرة على توضيح تكاليف اللياقة لأي دفاع محفز بيوكيميائياً بوجه خاص بسبب أن العديد من الاستجابات تتضمن تغيرات فسيولوجية ومورفولوجية والتي بدورها لا ترتبط بالمقاومة ولو أنها تؤثر على معايير اللياقة . كمثال مع أن النباتات تعول المقاومة لآكلات النباتات فإن حمض الجسمونيك JA تشترك في العديد من العمليات مثل نضج الثمار وخصوبة حبوب اللقاح ونمو الجذور والتفاف المحاليق ومقاومة مسببات الأمراض النباتية . المعاملة بمشتق الميثيل استر لحمض الجسمونيك Me JA يثبط استنساخ جين البروتينات الضرورية للنمو وكمثال Rubis Co وبروتينات ارتباط الكلوروفيل a / b ومن ثم تتخفض عملية البناء الضوئي . هذا الخفض يقلل من اللياقة عندما تنمو النباتات تحت ظروف محدودة المصادر أو المدخلات . تنظيم النمو وانهيار بروتينات البناء الضوئي قد تكون ضرورية لتوفير المصادر المطلوبة للإنتاج الجديد لصفات المقاومة ولكنها قد لا ترتبط بصفات المقاومة . في الوقت الراهن لا نعرف إلا القليل جداً عن الصفات الضرورية والكافية لتحقيق المقاومة . هذه التأثيرات Pleiotropic قد يزيد من تقديرات تكاليف اللياقة الخاصة بالمقاومة في دراسات التحفيز أو قد تمثل بدقة التكاليف الحقيقية للياقة الخاصة بتحفيز الدفاع عن طريق إعادة ضبط عمليات التمثيل المطلوبة لتنشيط الدفاع .

٢-٣- اقتراب الوراثة الكمية Quantitative genetics

دراسات التحفيز تستخدم المرونة الفينولوجية للنباتات المحفزة لمقارنة لياقة النباتات مع وبدون الدفاعات المنشطة وهناك اقتراب آخر يستخدم التباين الوراثي في المقاومة . المحاولات المبكرة لتقدير الوضع الوراثي المشترك في توفير المصادر للدفاع قارنت معايير اللياقة للنسل من عبور الأنواع والأصناف أو المجاميع التي تختلف في درجة استثمار دفاعها . بسبب أن الاختلافات الوراثية داخل المجاميع تنجز العديد من الصفات بالإضافة لتلك التي تتحكم في المقاومة فقد استخدمت تحاليل الأقارب وتجارب الانتخاب الصناعية لفحص الارتباطات السالبة بين التباينات الوراثية في المقاومة وفي اللياقة . في دراسة رائدة تم استخدام عائلات ذات نصف قرابة لنباتات *Pastinaca sativa* وتحصل

الباحث Beren baum ومعاونوه (١٩٨٦) على دليل قوى عن هذه الاختلافات الوراثية مما أوضح أن المقدرة الوراثية المتحكم فيها لإنتاج دفاع مضاد لآكلات الورق يرتبط سالبياً بمعايير اللياقة . إنتاج الفيورانوكومارينات الذى يفسر ٧٥% من التباين فى المقاومة لآكل نبات خاص ترتبط سالبياً بإنتاج البذور فى غياب آكلات النباتات . وجدت دراسات أخرى ارتباطات سالبة بين صفات الدفاع الوراثية ومعايير اللياقة وكمثال فإن الإنتاج العالى للجلوكوسينولات فى نباتات *Brassica rapa* ترتبط باللياقة الضعيفة للآفات والقليل من زيارات الملقحات ولكن العديد من الدراسات الأخرى فشلت فى الحصول على أية ارتباطات مؤثرة بين مستوى المقاومة ونجاح التكاثر . تحليل التمثيل Meta-analysis الذى أجرى عام ١٩٩٦ قام بفحص الظروف التى تم تقدير التكاليف فى ظلها وقد خلص الباحث إلى أن حوالى ٣/١ من هذه الدراسات وجدت تكاليف عالية وأن السيطرة الأكبر فوق الخلفية الوراثية زادت من احتمالية أن صفات المقاومة يمكن الكشف عنها .

٢-٤- دراسات الطفرة والتحول Mutant transformant

التقدم الذى حدث فى الطرق الجزيئية خلال الحقبة الزمنية الماضية مكنت من تغيير جينات دفاع متخصصة ومن ثم حل المشاكل المرتبطة بالعوامل التى تختلف مع التعبير الجينى . استخدام المواد المطفرة والنباتات المتحولة التى تعبر عن جينات المقاومة أو تلك التى تتوارى فى التعبير عن هذه الجينات بما يسمح بفحص تتابعات اللياقة ضد الخلفية الوراثية . التعضيد الابتدائى لفرضية أن التعبير التركيبى للمقاومة يخفض من اللياقة التى تتأتى من الطرز الفينولوجية للمواد المطفرة والتى تعبر تركيبياً عن جينات نظم التأشير التى تعول مقاومة الممرض النباتى وهذه الطفرات قزمت النمو والتطور تقليدياً . الدراسات المتتابة فى الواقع قامت بقياس تتابعات اللياقة لهذه الطفرات . التنشيط التركيبى للمقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) بواسطة الطفرات *Cpr1* , *Cpr5* , *Cpr6* ينقص من إنتاج البذور فى نباتات أرابيدوبسيس ثاليانا . من الدراسات الرائدة التى تم فيها السيطرة الكبيرة على الاختلافات المؤثرة فى الخلفية الوراثية أظهرت أن تكاليف اللياقة لجين مقاوم خاص مسئول عن المقاومة للممرض بسيدوموناس سيرنجيا . التعبير العقلانى لجين المقاومة *R* هذا *rpm1* الذى يشفر بروتين غشاء البلازما الطرفى الذى يعمل كمستقبل لمحفزات الممرض خفضت من مخرجات التكاثر من الأرابيدوبسيس ثاليانا بمقدار ٩% . هذا ولو أن الاستجابات الخاصة التى تحفز بواسطة هذا الممرض فى نظام التمييز وهو المسئول عن نقص مخرج التكاثر مازالت غير معروفة .

هناك قليل من الدراسات التى تناولت تتابعات الطفرات أو التحولات فى نقل ونسخ الإشارة للدفاع ضد آكلات النباتات . فى نباتات سولانم تيوبيروسوم فإن مضاد الحس - السكون لجين التخليق الحيوى لنظام تأشير الجسمونات (*Lox*) زادت من إنتاج الدرنات - من المدهش أن الدراسة التى استخدمت المطفرة *Jor 1* فى نباتات الأرابيدوبسيس الذى

يعانى من نقص فى تآشير JA وفى التعبير عن مثبطات البروتينيز (PI's) وجدت خفض كبير فى إنتاج البذور بعد التحفيز مع JA فى خط التطفير عما هو الحال مع الخطوط البرية (WT). هذا ولو أن نباتات A.tbaliuna المتحولة وراثياً والتى تعبر عن كربوكسيل مثيل ترانسفيريز (kmt) ومن ثم تزيد من إنتاج Me JA أدت إلى خفض إنتاج البذور.

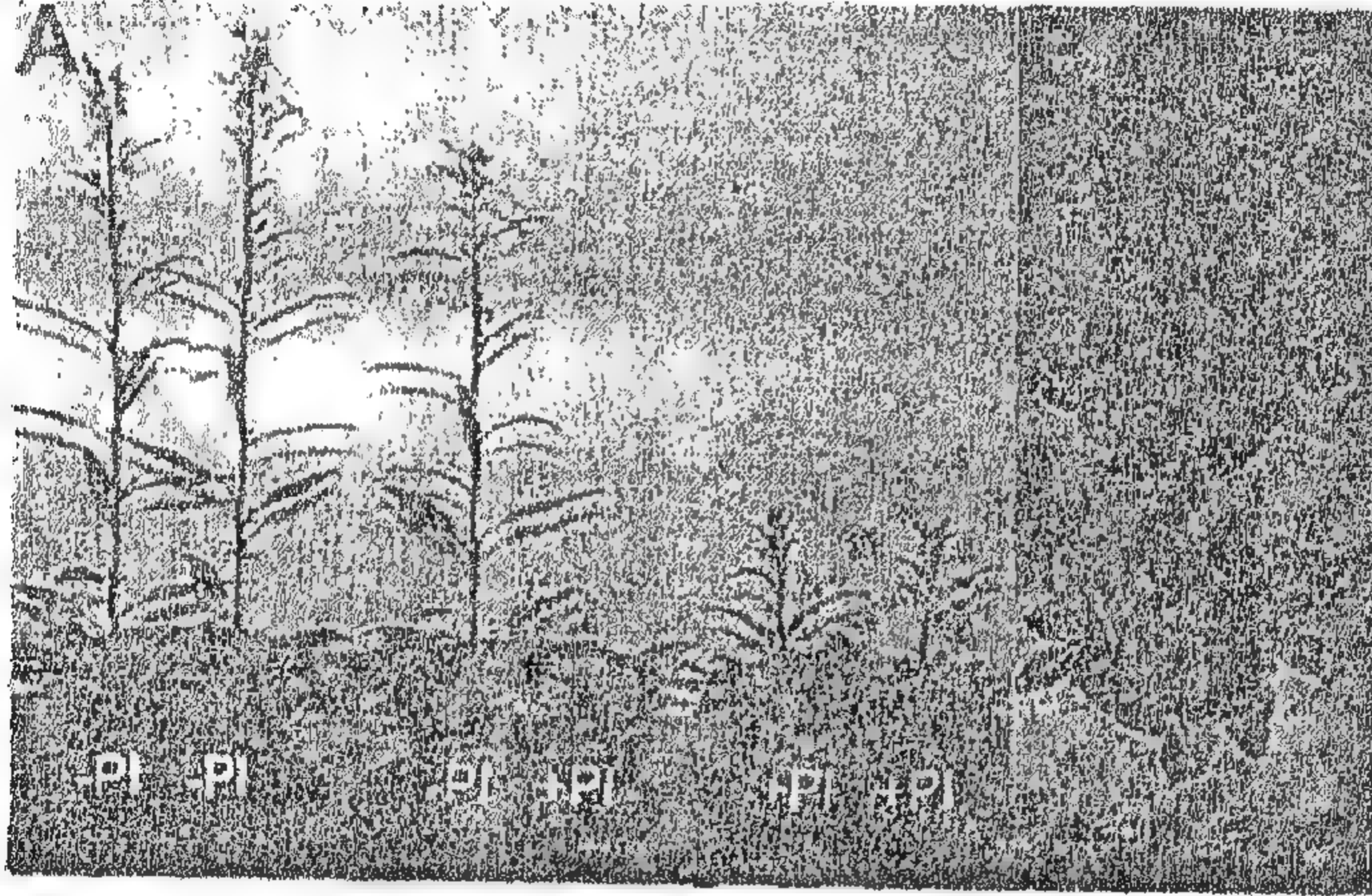
كما فى دراسات الإثارة أو التحفيز فإن استقراء الطفرات الإشارية أو النبات المتحولة وراثياً إلى جزيئات إشارية معبر عنها تركيبياً تحدث بواسطة القواعد المختلفة التى تلعبها الجزيئات الإشارية خاصة ما يتعلق بالسيطرة على النمو والبناء الضوئى. لذلك فإن تكاليف اللياقة لدفاعات خاصة تقدر أفضل فى خطوط متشابهة جينياً والتى تختلف فى جين التخليق الحيوى لصفة دفاعية معينة. بالإضافة إلى ذلك فإنه إذا كانت النباتات متحولة وراثياً للتعبير عن جين معين فإن المكونات الكيميائية والايكولوجية (إذا كان الجين يعبر بغير تجانس) التى يشترك فيها الجين لابد وأن تتغير. التعبير عن صفة دفاعية فى نسيج خاص أو مكون من مكونات الخلية قد تكون ضرورية لتحقيق الوظيفة الدفاعية وكذلك لتقليل تكاليف اللياقة. هذا ولو أن التعبير الخارجى للدفاع فى جميع الخلايا يعطى نتائج زائفة. نواتج التمثيل الأولية والوسط الكيميائى معروف أنها تؤثر على وظيفة نواتج التمثيل الثانوية. بالإضافة إلى ذلك فإن نواتج التمثيل الثانوية تؤثر احدها على الأخرى وكاستجابة لهجوم آكلات الأوراق فإن معظم النباتات تزيد من تركيزاتها من حزمة نواتج التمثيل الثانوى المتنوعة. مقدرة تأثيرات هذا التنوع الكيميائى يمكن أن تحجم بواسطة كبت أو سكون الجينات الداخلية التى تؤثر فقط على إنتاج ناتج تمثيل دفاعى خاص. هذا الاقتراب يسمح بدراسة الوظيفة الايكولوجية وتكاليف صفة خاصة فى وسطها الطبيعى كما ظهر فى حالة مثبطات البروتينيز المحفزة الإنتاج فى نباتات نيكوتينيا أتينيواتا.

حتى نكون قادرين على إرجاع اللياقة أو المتغيرة أو المقاومة إلى الجين المستهدف فإن التتابعات الوراثية للتحويل أو خطوات التطفير تحتاج للتوصيف. الخطوط المتحولة وراثياً يجب أن تعول إدخال منفرد لجين التحويل كما يجب أن يكون متجانس الزيجوت ومن ثم فإن نجاح الكبت أو تعبير الحس يجب أن يتحقق عن طريق قياس مستويات النسخ للجين المستهدف والطرز الفينولوجية الملاحظة يجب ألا تكون راجعة إلى تأثير تشويش الشفرة الوراثية عند موضع الإدخال أو إلى الناقل المستخدم فى التحويل.

٢-٥- مثبطات البروتينيز - دراسة حالة

العديد من الأنواع النباتية التى تنتج حمض الجسمونيك JA تحفز مثبطات البروتينيز كوسيلة دفاع مباشر. مثبطات البروتينيز عبارة عن بروتينات مضادة للهضم تستطيع أن تخفض من أداء العديد من آكلات النباتات عن طريق خفض نشاط بروتينيز المعدة. لتقدير ما إذا كان إنتاج مثبطات بروتينيز التربين تجلب تكلفة لياقة فى ن. أتينيواتا قام الباحث

Zavala وآخرون (٢٠٠٤ - b) بتحويل اثنان من الطرز الجينية ، فى الأول تم كبت إنتاج مثبط البروتينى الداخلى بواسطة إدخال جزء من جين Pi فى توجيه مضاد للحس وفى الثانى حيث الطرز الجينى الذى فيه طفرة غير حسية فى جين Pi تم التعبير تركيبياً عن مثبطات البروتينى (PI's) . النباتات التى تعانى من نشاط PI تنمو أسرع وتكون أطول وتزهو مبكراً وتنتج أكثر من كبسولات البذور (٢٥ - ٥٣% أكثر) عن الطرز الوراثة متساوية الجين التى تنتج PI مع من تينافسون معها (الشكل ٣-١) . لقد كانت النتائج متشابهة بصرف النظر عما إذا كان نشاط PI انخفض فى خطين غير مرتبطتين معاً أو ترمم وتعاد إلى وضعها . الاختلاف فى إنتاج أكياس البذور بين الجيران المتنافسة ترتبط مع الاختلاف فى نشاط PI . من الواضح أن إنتاج PI يمثل تكلفة كبيرة للياقة عندما تنمو النباتات تحت ظروف غير تنافسية لهجوم آكلات النباتات والتى تتوافق مع فرضية أن التحفيزية تنشأ كميكانيكية لتوفير التكلفة .



شكل (٣-١) : النمو التنافسى يوضح تكاليف إنتاج مثبط البروتينى (PI) فى نباتات *N. attenuata* . عندما تنمو أزواج متشابهة الجينات من النباتات التى تختلف فقط فى تعبيرها لمثبطات البروتينى فى نفس الأصص فإن النباتات المنتجة لمثبطات البروتينى تكون خارج المنافسة بواسطة النباتات الخالية من PI وتنتج بذور قليلة بشكل كبير . (A) تمثل الطرز الجينية الطبيعية التى تعول الطفرة الناتجة فى كودون الوقف غير الناضج فى جين PI بينما (B) تمثل الطرز الجينية المتحولة متشابهة الجينات إلى إنتاج PI مكتوم بواسطة RNAi . الصور (A) أخذت بواسطة المصور G. Glave والصور (B) أخذت بواسطة المصور H. Wunsche .

أظهرت دراسة لاحقة مع نفس الخطوط متساوية الجينات بعض منها لم تهاجم والأخرى تم السماح ليرقات *M.sexta* بالتغذية بحرية وقد اتضح أن النقص في إعاقة PI في اليرقات ترجع الأداء إلى عائد لياقة للنبات فاق تكاليف إنتاج PI تحت ظروف الصوبة الزراعية . مرة أخرى فإن إنتاج مثبطات البروتين في النباتات غير المصابة كان مرتبطاً سالبياً مع إنتاج أكياس الحبوب وأتضح كذلك أن الإصابة باليرقات لم تخفض من إنتاج أكياس فقط ولكنها عكست نظام إنتاج كبسولات البذور بين الطرز الجينية كما ظهر أن الطرز الجينية التي تنتج PI بدرجة عالية يكون لها لياقة عالية عن تلك التي تنتج قليل أو لا تنتج PI على الإطلاق . استخدام النباتات متساوية الجينات التي تغيرت في التعبير عن جينات دفاعية خاصة مكنت من فحص نموذج التكلفة في مقابل الفائدة تحت ظروف طبيعية مختلفة . الدراسات الحقلية على نباتات ن. أتينيواتا المهندسة وراثياً والتي تم خمدتها للجينات المرتبطة بالتخليق الحيوي لللاكالويد النيكوتين أو في شلال حمض الجسمونيك التي تحفره أظهرت فعلها كدفاعات مضادة لآكلات الأوراق في الطبيعة .

٣- تأثير الارتباط The impact of Linkage

٣-١- أنواع الارتباط

التعبير عن خصائص الدفاع يمكن ربطها مع صفات أخرى بواسطة ميكانيكيات مختلفة . الجينات التي تعول المقاومة ترتبط بجينات أخرى تقع على نفس الكروموسوم . حتى مع هذا فإن هذا الارتباط يشوش أو يختل بواسطة العبور خلال التكاثر الجنسي فإن الجينات القريبة من بعضها البعض قد لا تتعزل بشكل غير مستقل وهذا الاستقلال يمكن تحديده كمياً على صورة عدم الاتزان للربط . في نباتات *A.thaliana* فإن الشكل المتعدد Polymorphisms يكون غير مستقل تقليدياً إذا كانت بعيدة أو منفصلة بأكثر من ٥٠ كيلو متر بينما تحت مسافة أقل من هذه يكون عدم الاتزان الرباطي كبيراً ومعنوياً (Plagnol et al., 2005) . ولو أن هذه عبارة عن تقديرات غير دقيقة حيث أن موقع الجين في المناطق الكروموسومية الخاصة تؤثر بشكل كبير على معدل الدمج . التقدم في تحفيز الارتباط الوراثي تجاه جين المناورة أنقصت من العديد من التأثيرات المؤثرة التي لها اختبارات مزعجة عن نموذج التكلفة في مقابل الفائدة ولكن أي من الاقترايات التي ذكرت قبلاً استبعدت التأثيرات الأخرى من جراء ارتباط صفات الدفاع مع التمثيل النباتي .

إزالة أو استبعاد مكون واحد في ماكينة التمثيل تؤكد أنها تسبب تغيرات في انسياب ناتج التمثيل والذي يعود بدوره إلى تنظيم عملية التمثيل خلال التغذية الرجعية المعقدة والسيطرة اللاحقة . الدرجة التي يتغير فيها التمثيل تعتمد على كيفية تنظيم الصفة وكيف تشترك بعمق في ماكينة التمثيل . الدرجة الكبيرة التي عندها تؤثر مختلف مسارات التأشير التي تنظم جينات المقاومة على التمثيل واضحة ولكن التغيرات عند الفروع النهائية

لمسارات التمثيل يكون لها تتابعات بسبب البادئات المتراكمة أو المنتجات الجانبية . لذلك فإن مقارنة نباتين مختلفين وراثياً في التعبير عن جين مقاومة مفرد قد تتضمن تتابعات تمثيلية متغيرة . هذه التغيرات قد تكون المسبب أو تتابعات تكاليف الدفاع .

بالإضافة إلى الارتباط الجينومي والتمثيلي فإن الارتباط الوظيفي يؤثر كذلك على تكاليف وفوائد صفات الدفاع . كيف أن وظائف صفة الدفاع تعتمد على وجود أو غياب نواتج التمثيل الأخرى محل الاعتبار . التكاليف الايكولوجية للدفاع المباشر السام العريض الذي يتداخل مع الدفاعات غير المباشرة عندما تختار أكالات النباتات المتحملة صفة المقاومة النباتية لدفاعاتها الخاصة وهذا مثال معروف . بالإضافة إلى ذلك فإن وظائف صفات الدفاع المختلفة قد ترتبط بشكل مباشر : التداخلات التنشيطية كمثال فإن زيادة المقاومة فوق مجموع المقاومة التي تتحقق بواسطة كل وسيلة أو صفة دفاع فردية . مع زيادة الفوائد أكثر من تكاليف الدفاع فإن الارتباط الوظيفي قد يكون في غاية الفاعلية ميكانيكية توفر التكاليف .

٣-٢ - الارتباط التمثيلي Metabolic linkage

الصعوبات في حل أو فك تكاليف اللياقة للموارد المعينة إلى صفة دفاع خاصة من تتابعات اللياقة للتغيير في الموضع الناتجة من عمليات أخرى التي تنشط خلال التحفيز ذكرت فعلاً . بالإضافة إلى ذلك فإنه ليس واضحاً ما إذا كان في الطرز الجينية متساوية أو متشابهة الجينات غير القادرة على التعبير عن صفة خاصة فإن الموارد التي لم تستخدم في الدفاعات يعاد توجيهها المباشر حتى تكون متاحة للنمو والتكاثر . تحولات وضع الموارد المطلوبة للدفاع قد تحدث بعيداً عن تيار مسار جزء التخليق الحيوي الموجه لإنتاج ناتج التمثيل فعلياً خاصة إذا كان الدفاع ينتج بواسطة مسار طويل متعدد الخطوات . من الأمثلة الفسيولوجية التي درست جيداً عن هذا الدفاع ما يتمثل في تراكم النيكوتين في الأوراق في النباتات أنواع نيكوتينانا التي هوجمت . هذا التراكم يتضمن فصل مكاني كبير بين موقع التخليق وموقع هجوم آكل النبات ومن ثم يكون مطلوب نظام تأشير لمسافة طويلة حتى يتم تخطي الفراغ .

الزيادة المحفزة للنيكوتين في سوق نباتات نيكوتينانا سيلفستريس وكذلك ن . أتينيواسا تعال بواسطة تأشير حمض الجسمونيك وينتج من زيادة التخليق الحيوي للنيكوتين الجديد الذي يحدث في الجذور . في كلا النوعين فإن تحفيز الأوراق بواسطة الميثيل جسمونيك أسيد Me JA تزيد من نسخ إنزيم Putrescine N-methyl (PMT) وهو الإنزيم الذي ينظم التخليق الحيوي للنيكوتين . الإشارة التي تتحرك من مكان الهجوم إلى الجذور لتحفيز التخليق الحيوي للنيكوتين تنتقل عبر اللحاء بينما ينتقل النيكوتين في الساق عبر الخشب . تجارب التعقب Pulse - chase مع نظير النتروجين ^{15}N أظهرت أن اختزال النتروجين والتمثيل لم تتأثر بعد التحفيز ولكن نسبة النتروجين المختزل التي

تخصص للنيكوتين تتضاعف . لقد أدى ذلك إلى الاقتراح بأن التخصص الكبير لتكاليف إنتاج النيكوتين قد ترجع إلى تحول في تخصيص النتروجين خاصة بسبب أن النيكوتين لا يهدم بشكل كافى فى عملية التمثيل لإعادة تدوير نتروجينية كى يستخدم فى التكاثر . تحفيز نباتات ن . أتينيواتا بواسطة إستر ميثيل جسيمونيك معاملة الجذور بهدف تنشيط تخليق النيكوتين بوجه خاص خفض من إنتاج الجذور بمقدار ٤٣ - ٧١% فى تجارب الصوب الزراعية وبمقدار ١٧ - ٢٦% فى الزراعات الحقلية والمجاميع المتوطنة من النباتات التى لم تهاجم بواسطة آكلات النباتات . تحفيز الجذور بواسطة MeJA سوف يحفز العمليات بالإضافة إلى تلك المطلوبة للتخليق الحيوى للنيكوتين . للتغلب على هذه التأثيرات الثانوية للتحفيز بالمثيل جسيمونات وكسبت جين Pmt بواسطة RNAi والخطوط المتشابهة الجينات لنباتات ن . أتينيواتا تم إنتاجها وفيها تراكم أقل بمقدار ١٠% من النيكوتين عما هو الحال مع نباتات WT . هذا ولو أن هذه الخطوط فيها تراكم مستويات من الالكالويد التى لم يكشف عنها فى نباتات WT وهى أناتابين Anatabine وهو يساوى ربع مستويات النيكوتين فى نباتات WT . كبت PMT يحدث خلل فى التخليق الحيوى للنيكوتين عند تكوين حلقة البيروليدين الخماسية . تجارب التعقب مع حمض نيكوتينيك الثانوى وهو بادىء حلقة البيريدين السداسية للنيكوتين أظهرت أن زيادة ديمرة حمض النيكوتينيك لتكوين مركب الأناتابين . لذلك فإن التخليق الحيوى للنيكوتين يتحقق ويوجه بواسطة كبت الإنزيم المنظم والزيادة المحفزة فى نواتج التمثيل المحتوية على النتروجين فى مسار التخليق الحيوى للنيكوتين لا يحدث لها خلل كامل كما تأكد من تراكم المنتج الجانبى الجديد . لم يتحصل على دليل أن بادىء الحلقة الخماسية (Putrescine) يتراكم . مشتقات Putrescine المعروف عنها التراكم بعد التحفيز بواسطة مثيل جسيمونات (مثل Caffeoylputrescine) لم تظهر أية تغيرات كنتابع لكبت PMT . هذا ولو أن ربع النتروجين الذى يخصص عادة للنيكوتين مازالت مخصصة للالكالويد (Anatabine) حتى مع كبت PMT . هذا المثال يعطى تقديرات أقل من الواقع عن أهمية التوصيف الواقعى لتمثيل الخطوط القاصرة فى إنتاج الدفاع وبأكثر عمومية عن أهمية الارتباط التمثيلى فى دراسة تكاليف الموضع .

قد يحدث الارتباط التمثيلى كذلك إذا كانت إنزيمات التخليق الحيوى لنواتج التمثيل الثانوى ذات وظيفة مساعدة إضافية فى التمثيل الأولى أو إذا كانت المنتجات نفسها تنظم عمليات أخرى . لذلك فإن إنتاج مثبطات البروتيز PI's فى نباتات ن . أتينيواتا تعمل كوسيلة دفاعية عندما يتم تناول PI's بواسطة آكلات النباتات كما أنها قد تقوم بتنظيم البروتيز فى النبات كذلك . ما إذا كانت تكاليف اللياقة لإنتاج مثبطات البروتيز PI تنتج من تكاليف تخصيص الموارد أو من الوظائف الفسيولوجية البديلة مثل تنظيم البروتيز الداخلى مازالت مطلوبة التقدير . لتحديد أو تقدير ما إذا كانت تكاليف اللياقة الدفاع ترجع

إلى تحول تخصص المصدر من النمو والتكاثر إلى تمثيل ثانوى حيث أن انسياب المصادر المحددة للياقة في هذه الصفات . هذا ممكن في تجارب التعقب مع المصادر المحددة للياقة المعلمة إشعاعياً . الارتباط التمثلي في مقابل الوظيفة الثانوية لمثبطات البروتين في نباتات ن . أتينيواتا قد تفسر لماذا أن النقص في PI's في الطرز الجيني الطبيعي مع الطفرة غير الحسية تندمج مع نقص في أفراد جاذب المفترس سيس - الفا - برجاموتين وبالتبادل فإن هذه الصفات قد ترتبط وظيفياً كذلك .

٣-٣ - الارتباط الوظيفي Functional linkage

بسبب أن النباتات تنتج كوكثيل من الدفاعات الكيميائية والوظيفية المتنوعة فإن هناك جدال منذ فترة طويلة عما إذا كانت هذه المخاليط من نواتج التمثيل الثانوية ذات قيمة للتكيف . الميزة الاختيارية لإنتاج مخاليط من الأليلوكيميائيات المختلفة قد تكون في مدى عرض للأعداء الذي تحفز الدفاعات ضدها حيث تزداد سمية المخاليط أو تؤخر نشوء مقاومة آكلات النباتات للدفاعات النباتية . الوظائف الدفاعية للمواد الأليلوكيميائية في العادة تختبر منفصلة بصرف النظر عن التداخلات التنشيطية بين نواتج التمثيل الثانوية . الارتباط الوظيفي قد يسمح للنباتات بتحول تتابعات اللياقة لنواتج التمثيل الدفاعية تجاه الفوائد داخل منظومة التكلفة في مقابل الفائدة .

وجود الارتباط الوظيفي بين إنتاج مثبطات البروتين PI في نباتات ن . أتينيواتا وانفراد المواد الكيميائية المتطايرة VOC فإنها تنقسم نفس المحفز ومن ثم تعبر بتناسق إذا كانت وظائف الدفاع يعتمد كل منها على وجود الآخر . بسبب أن إنتاج PI ينقص من معدلات نمو آكلات النباتات بواسطة تثبيط عمليات الهضم في الحشرات فإن العلاقة بين فوائد اللياقة للتعبير عن مثبطات البروتين قد تنتج من امتداد الفترة التي خلالها يحدث هجوم الأعداء الطبيعية على اليرقات بنجاح . المفترسات في المأوى الأصلي لنباتات ن . أتينيواتا ما هي إلا بق مفترس صغير يفترس الأطوار الصغيرة فقط من آكلات النباتات من حرشفية الأجنحة الكبيرة مثل أنواع Manduca (الشكل ٣-٢) . هذا يعنى أن الفائدة الدفاعية للتعبير عن PI يجب أن تزداد إذا كانت النباتات نفسها تجذب الأعداء الطبيعية لآكلات النباتات . تحت ظروف الصوب الزراعية فإن إنتاج PI يزيد من اللياقة النباتية عندما تهاجم النباتات بحشرة M.sexra حتى مع غياب المفترسات ولكن فوائد اللياقة لمثبطات البروتين يجب تقديرها في البيئات الطبيعية مع مجتمع أكل النبات المتوطن .

هجوم أكل النبات يحفز حمض الجسمونيك JA الذى يعول وينسق الزيادة في كلا مثبط البروتين PI ومستويات النيكوتين . عندما يحدث كبت لوسيلتى الدفاع هاتين كل على حدة في نباتات ن . أتينيواتا فإن كل منها يعمل بفاعلية كدفاع ضد واحد من آكلات النباتات العامة هذه وهي الدودة الخضراء أو القارضة Spodoptera exigua . هذا ولو

أن كبت PI والنيكوتين في تزامن أوضح أن وظيفة الدفاع لمثبطات البروتينيز يعتمد بدرجة كبيرة على وجود النيكوتين : يرقات الحشرة تعمل أفضل وتستهلك أكثر على النباتات المنتجة لمثبط البروتينيز PI ولكن النباتات التي تعاني من نقص النيكوتين عما تستهلكه على النباتات التي حدث فيها كبت وخمود لوسيلتي الدفاع هذه . سبب التنشيط يتمثل في الاستجابات التعويضية لليرقات التي تتغذى على غذاء يحتوى على مثبطات البروتينيز . النيكوتين يمنع الحشرة *S.exigua* من التعويض الفائق للنشاط المضاد للتغذية لمثبط البروتينيز بواسطة زيادة الاستهلاك . لذلك فإن نشر وسيلتي الدفاع هذه تقدم وتحقق تنشيط التداخلات التنشيطية للدفاعات نادراً ما تم دراستها .



شكل (٢-٣) : المفترسات المتوطنة التي تفترس العمر اليرقى الأول من حشرة *M.sexta* والتي يزداد وزن جسمها ١٠٠٠٠ مرة من الانسلاخ خلال خمسة أعمار حتى التعذر . *Geocoris pallens* (A) هي المفترس السائد في الماوى المتوطن ن . أتينيواتا خلال موسم النمو وحوريات *Reuvibae* (B) وهي مفترسات في وفرة خلال التزهير وتكوين البذور . مع وصول الحشرة *S. sexta* للعمر الثالث اليرقى فإن كلا المفترسان يكونا أصغر من الضحية . الدفاعات المحفزة غير المباشرة التي تؤخر

نمو وتطور أكل النباتات تزيد من احتمالية الافتراض بواسطة إطالة الفترة خلال فترة هجوم المفترسات الصغيرة لهذه اليرقات .

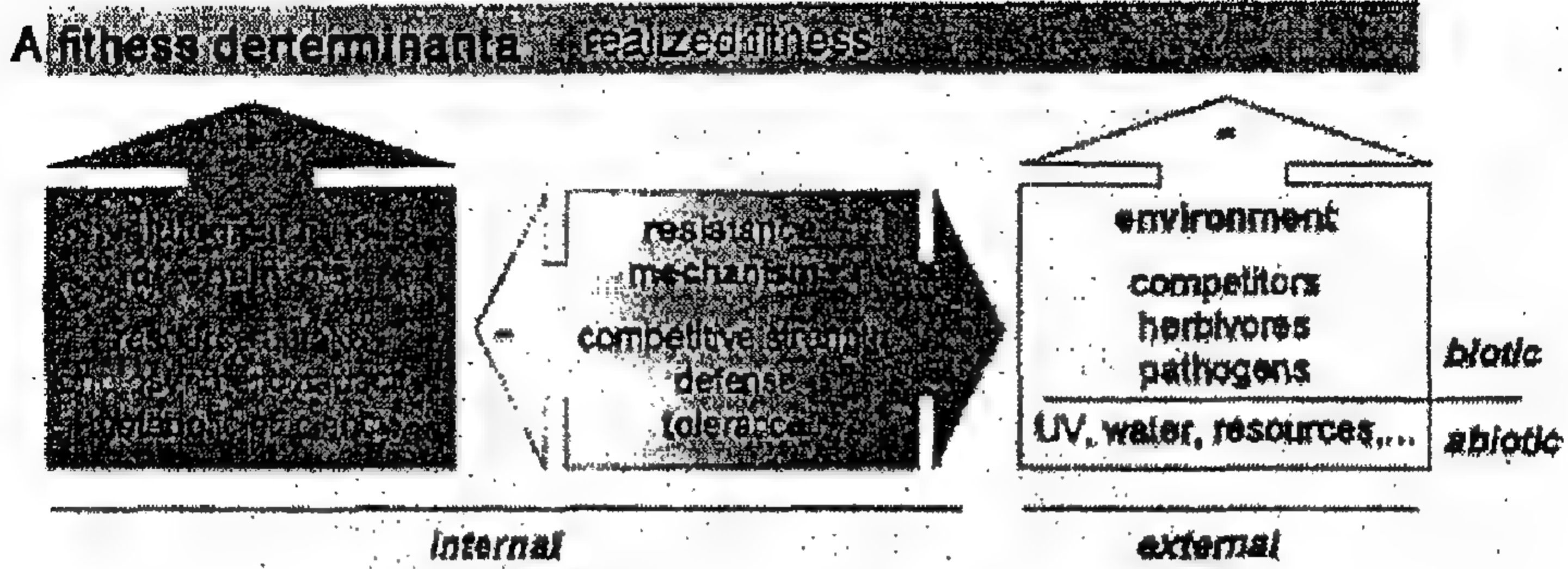
٣-٤ - رؤية ديناميكية تكاليف وفوائد الاستجابات المحفزة

خلاصة القول أنه ولو أن النظريات حول ايكولوجى ونشوء الدفاعات النباتية تبنى على مخرج العلاقة بين التكاليف والفوائد فإن الدليل عن التكاليف نادر الوجود . هذا بسبب صعوبات فصل تكاليف اللياقة لصفة دفاعية معينة عن الصفات الوراثية والتمثيلية والوظيفية المرتبطة . التقدم فى الطرق بما يسمح بالسيطرة على الخلفية الوراثية والارتباط الوراثى أصبحت واقعاً ولكن لكى نستوضح الأدوار الكاملة عن طيف القواعد التمثيلية والايكولوجية للدفاعات المحفزة يكون مطلوباً إجراء تحليل تفصيلى عن تتابعات الاستساخ والتمثيل . التحفيز بواسطة محفزات خاصة من آكلات النباتات معروف أنه يؤدي إلى تغيرات كبيرة فى مكون النسخ Tran scriptome ومكون التمثيل Metabolomes فى النباتات . التغير المفرط فى التمثيل الأولى (كمثال التنظيم التحتى للتمثيل الضوئى) الذى يصاحبه أو يصاحب بشيوع تحفيز الدفاع قد يكون مطلوباً لإعادة تخصص الموارد للتمثيل الثانوى للطاقة . كبديل فإن التحول التمثيلى قد يعمل بنفسه كوسيلة دفاع . الاستجابة المحفزة لأكل النبات فى ن . أتينيواتا يتضمن إعادة التناسق للعلاقات بين المصدر - المغطس فى النبات ومن ثم فقد ثبت حديثاً أن بعض نواتج البناء الضوئى تنتقل للجذور عما هو الحال عبر الأوراق الصغيرة . هذا التحول يعال بواسطة التنظيم التحتى السريع لتحت وحدة (GAL 89) لإنزيم الكينيز المرتبط مع SNF-1 (SnPK 1) فى الأوراق التى هوجمت . هذه الاستجابة المتنوعة للكربون تؤدي إلى زيادة مخزونات الجذور والتى تؤخر الشيخوخة وتطيل من فترة التزهير وإنتاج البذور . المستودع الذى يعول Snkkl لنواتج التمثيل الضوئى إلى الجذور يسمح للنباتات لتحمل أفضل لهجوم آكلات النباتات ولكنها قد تعمل كذلك كدفاع سلبى Passive defense بواسطة نقص القيمة الغذائية لآكلات النباتات الباقية فوق سطح الأرض .

الرؤية الأبسط للدفاعات المحفزة والتى تعبر بداية عن الدفاع تنشأ حتى تصبح محفزة ومن ثم خفض تكاليف الدفاع عندما لا تكون الدفاعات مطلوبة وهذه يصعب موائمتها مع الطبيعة المعقدة والمرنة لتمثيل النبات . الروابط المتنوعة بين مختلف الاستجابات لآكلات النباتات أدت إلى الاقتراح برؤية ديناميكية أكثر للتكاليف والفوائد للدفاع المحفز وهذه يجب أن تكون أكثر ملائمة . لياقة النبات تعتمد على العوامل الداخلة والخارجية (Fig. 3.3A. 1) . الأخير عبارة عن الظروف البيئية تتضمن المصادر والضوء والماء وتيسرها وكذلك الإجهادات الحيوية واللا حيوية . العوامل الداخلية تبدأ بالسعات الفسيولوجية مثل معدلات امتصاص وصعود المصدر ومعدلات البناء الضوئى والكفاءة التمثيلية ، وثانياً مقدرة عملية التمثيل لصيانة هذه السعات والقدرات تحت الضغوط البيئية التى تعود عليها النبات .

ميكانيكيات المقاومة للنبات هي الوسائل التي يتم ضبط التمثيل النباتي بواسطة لتعظيم مخرج التكاثر في مقابل صلة التنوع للاجهادات التي تواجهها النباتات . تكاليف ميكانيكيات المقاومة الناتجة من العلاقة بين تعظيم القدرة الفسيولوجية و (١) زيادة مستوى الإجهاد و (٢) تحديد مدى الظروف التي تكون هذه القدرات ملائمة و (٣) من المخرجات والعلاقة بين ميزة مرونة الطرز الفينولوجي (مثل المقاومة المحفزة) وعوائقها مثل التوريث المتأخر من التنشيط المحفز (Fig.3.3B) .

في الطرز الجيني أو الوراثي الذي ينتج وسائل دفاع أكثر ضد آكلات النباتات فإنه قد يؤدي هذا الإنتاج إلى نقص اللياقة تحت الظروف التي يكون فيها الطرز الجيني الأقل دفاعية عنده أقصى لياقة . هذا ولو أن التغيرات البيئية الصغيرة قد تعكس مخرج اللياقة هذا . الظروف التي يكون تحتها الطرز الجيني الأفضل دفاعية يحقق أقصى لياقة تميل للتغير بسبب الارتباطات التمثيلية والوظيفية . بواسطة نشر الدفاعات المحفزة فإن النباتات قد تكون قادرة لزيادة فرص اللياقة بالنظر للاجهادات العديدة حيث أن المخرجات مع مقاومة الإجهادات الأخرى تحدث فقط عندما تكون مطلوبة . الدليل المتزايد بين تداخل التأثير للاستجابات المحفزة المختلفة أدت إلى الاقتراح بأن النباتات قادرة على تدقيق Fine - tune عمليات التمثيل التي تقوم بها لتعظيم اللياقة تحت خليط من الإجهادات المختلفة . من أمثلة هذا التداخل الذي يعتمد على التركيز بين الساليسيلات (SA) المرتبطة بالمرض وتأثير حمض الجسمونيك المرتبط بأكل الأوراق في نباتات ن . تاباكوم (Mur et al. 2006) . تأثير حمض الجسمونيك JA والسلسليك أسيد SA ينشط أحدهما الأخرى عند التركيز المنخفض ولكن مع التركيزات العالية فإنها قد تضاد أحدهما الأخرى من حيث التخليق الحيوي ومنظومة التأثير المتتابة . لذلك فإن إعادة الترتيب المحفز للتمثيل لزيادة مقاومة أكل النباتات تغير من المقدرة الفسيولوجية وقدرتها على صيانة هذه القدرات تحت ظروف إجهادات بيئية أخرى . هذه الرؤية للدفاعات المحفزة لا تفترض وجود تكاليف دفاعات داخلية والتي يمكن حسابها في تكاليف المدخلات أو الطاقة ولكنها تشير إلى الاحتمالات البيئية لتكاليف الدفاع .



B area of realized fitness

tradeoffs between:

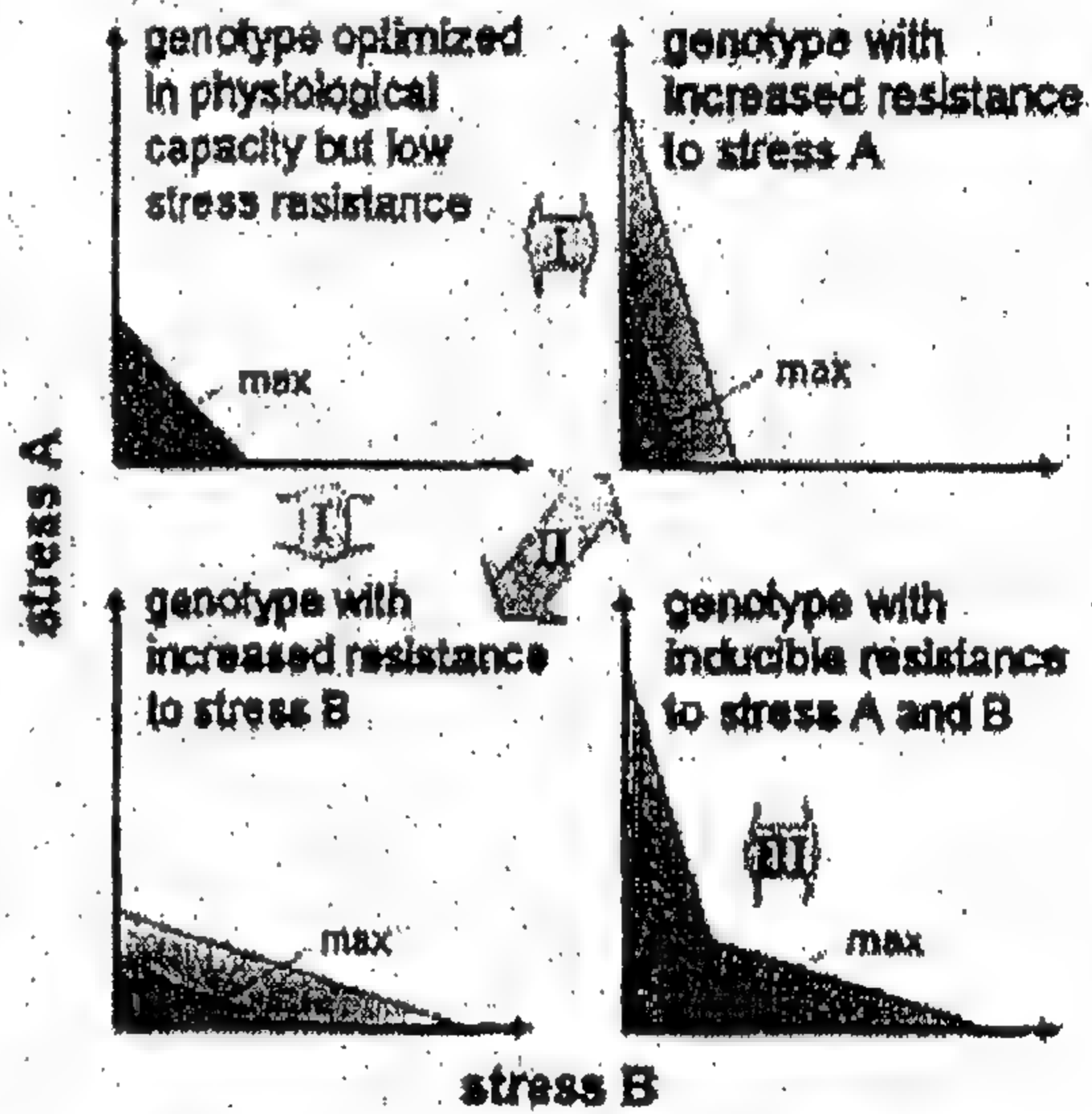
I physiological maximum fitness and stress resistance

II resistance to different stresses

III cost-saving inducibility and delay resistance

max = fitness maximum at optimal conditions

FITNESS 0 50 100



شكل (3-3) : (A) تصور مفهومي عن كيف أن العوامل الداخلية والخارجية تحدد اللياقة التي يستطيع النبات تحقيقها . الظروف البيئية تتفاوت تبعاً للعديد من الاجتهادات الحيوية واللا حيوية التي تؤثر على اللياقة في النبات . ميكانيكيات المقاومة التي تنشط بواسطة هذه الاجتهادات تضبط تمثيل النبات ومن ثم قوائم القدرات الفسيولوجية في تنوع البيئات التي يعيش فيها النبات. (B) ميكانيكيات المقاومة التي تزيد من درجة اللياقة عندما تنمو النباتات في بيئات فيها اجتهادات خاصة وتغير الظروف التي فيها يحدث أقصى لياقة . زيادة المقاومة لبعض الاجتهادات تؤدي إلى مخرجات مختلفة بالنظر للقدرات الفسيولوجية أو المقاومة لاجتهادات أخرى وهذه

التكاليف يمكن تقليلها عندما تنتشر المقاومة تحفيزياً وهي تنتج تكلفة من التأخير في تنشيط الصفات المستولة عن المقاومة .

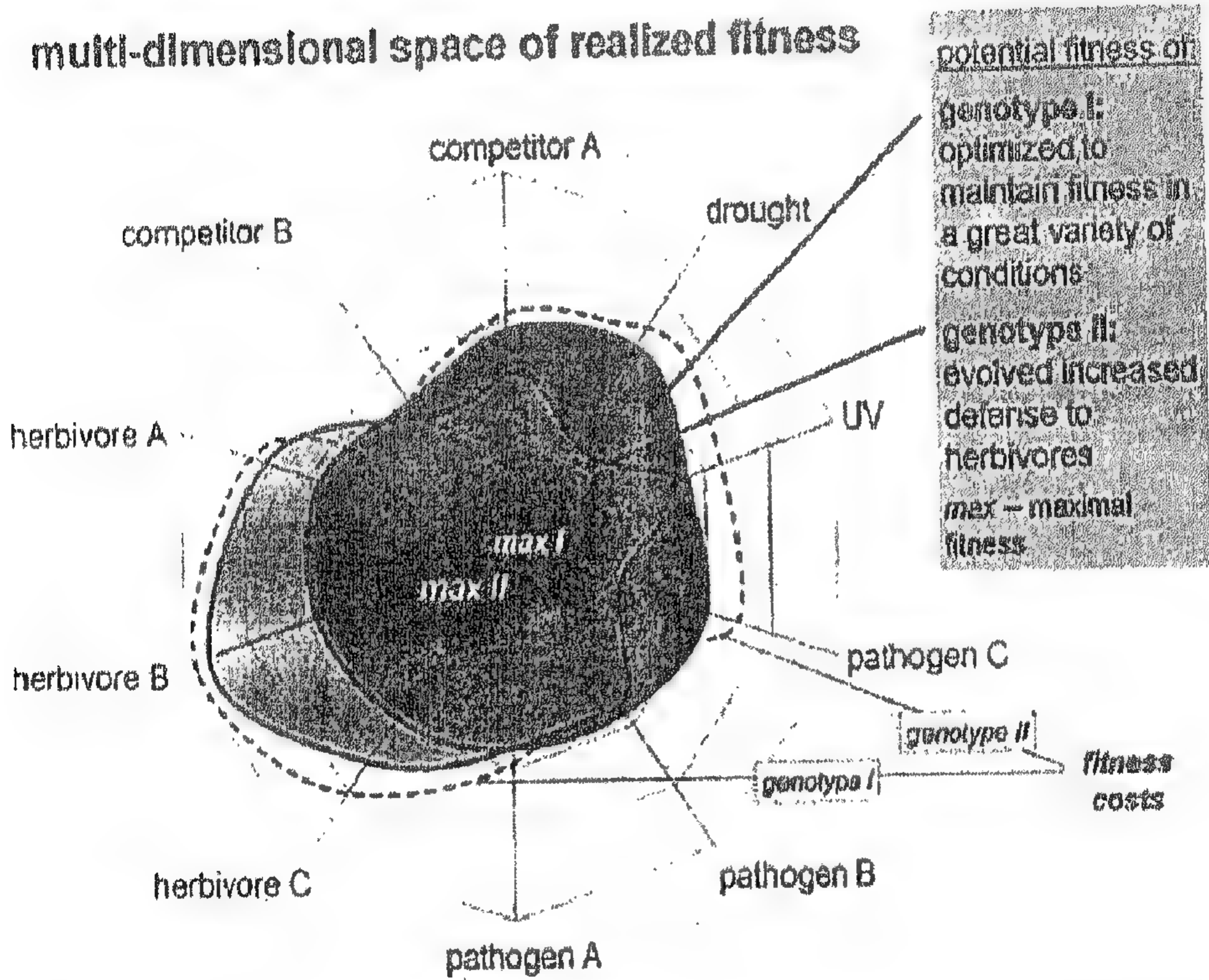
٤ - الاستنتاجات Conclusions

القبول الواسع لفرضية أن دفاعات النباتات مكلفة وهذا من جراء انعكاس خبراتنا واعتقاداتنا من أن ما يفيدنا يكون مكلفاً عما هو الحال من وزن الدلائل التجريبية ومخرجاتها . معدل البناء الضوئي قد لا يكون بالضرورة العامل المحدد الأكثر أهمية لنمو النبات ومن ثم كمية الكربون المتحولة من النمو إلى إنتاج وسائل الدفاع وقد لا تكون أفضل عمله لقياس التكاليف خاصة عندما تكون المصادر بخلاف الكربون أكثر تحديداً للنمو . تقسيمات التمثيل إلى تمثيل أولى أو ثانوى وإلى الدفاع ضد آكلات النباتات أو مقاومة الممرضات النباتية وهكذا وهذه التقسيمات تفيد في التعبير عن تعقيدات تغيرات التمثيل في ذات معنى أكثر ولكن هذا التعبير قد لا يساعد في التساؤلات التي لا يمكن الإجابة عليها إلا من خلال اللياقة في نظرية داروين . مسارات التمثيل المختلفة ترتبط بطرق معقدة كما في لعبة جمع العصي فإن تغيير صفة خاصة بدون اختلاف يكون لها تشعبات خلال التمثيل . ربما أن الاستجابات المحفزة لآكلات الأوراق لا تساهم أوتوماتيكياً في تكلفة اللياقة ولكنها تخفض من قابلية النبات لموامة لياقته مع التغيرات البيئية . الاستجابات المحفزة يمكن أن ترى كاستجابات تغير ليس فقط اللياقة الفسيولوجية القصوى ولكن تغير كذلك حجم وشكل وموقع أو موضع فرص النبات لتحقيق اللياقة في مكان متعدد الأبعاد للظروف البيئية التي يجب أن يحتلها كل نبات بنجاح خلال حياته . هذه النظرة للتكاليف والفوائد موضحة في الشكل (٣-٤) موضعاً نوعاً من الطرز الجينية أحدهما يتضمن دفاع أكبر ضد آكلات النباتات . هذا الطرز الوراثي (II) مازال قادراً على التكاثر تحت غزو مستويات عالية من أكل النبات ولو أن هذه الفوائد تجابه يتحدى من جراء المقاومة القليلة للممرض والجفاف والمنافسين . الأخيرة أي المنافس يعنى الظروف التي تفيد الطرز الجيني الآخر (I) ولكن على حساب المقاومة المحفزة لأكل النبات . بعد ذلك فإن تحت العديد من الظروف فإن نوعي الطرز الجينية تستطيع تحقيق لياقة مقارنة وتخفيض من النقطة الأساسية : تكاليف الدفاع ليست مطلقة ولكنها ذات احتمالية بيئية عالية .

إذا كان إنتاج الدفاعات النباتية ليست مكلفة حقيقة فإن موامة التكلفة قد لا تكون سبب الدفاعات المحفزة . النموذج الذي لا يفترض أن تكاليف حدوث الدفاع تمثل النموذج المتحرك للهدف ينادى بأن التحفيز ينشأ لإيجاد تغيير في تمثيل الطرز الجيني لآكلات النباتات . بسبب أن التباين الغذائي ينقص من أداء آكلات النباتات فإن التحفيزية قد تمثل بنفسها استراتيجية دفاعية . فرضية أخرى لا تعول على التكاليف تفترض أن القيمة المتطورة للتحفز تنشأ من زيادة مستوى الدفاع إلى مستويات سامة عالية عند الوقت الذي

يكون فيه أكل النبات في مرحلة الشراهة القصوى Voracious ومن ثم ينشط أكل النبات للتحرك في اتجاه منافس مجاور . كل هذه الفرضيات تتضمن نموذج التكلفة في مقابل الفائدة مع افتراض أن التحفيز عبارة عن صفة مشتقة وتعبير تركيبى لظروف الدفاع التشكيلي . هذا ولو أن الدفاعات قد تملك في الأصل كل التعبيرات المحفزة وتطلق تعبيرات تركيبية تحت ظروف خاصة . إذا كانت التكاليف ليست هي القوة الدافعة وراء نشوء الدفاعات النباتية المحفزة فإنه قد تنشأ كذلك تحت ظروف هجوم أكل النبات العالى والمتبأ به حتى لو كان معبر عنه بصفة دائمة . هذا يتفق مع الملاحظات بأن الدفاع المحفز شائع بصرف النظر عن حقيقة أن آكلات النباتات موجودة فى كل مكان وأن هجومها على النباتات لا يلين ولا يخف Relentless .

multi-dimensional space of realized fitness



شكل (٣-٤-) : نموذج التكاليف والفوائد والدفاع المحفز فى مكان متعدد الأبعاد من الظروف البيئية . داخل هذا المكان فإن كل طرز جينى للنبات له فرصة محدودة لتحقيق مستوى معين من اللياقة . لياقة الطرز الجينى مع زيادة المقاومة لواحد أو أكثر من الاجهادات البيئية تكون مقيدة تحت الظروف المختلفة . لياقة الطرز الجينى (II) (الرمادى الفاتح) مع زيادة الدفاع المضاد لأكل النبات كانت أقل عما هو الحال مع الطرز الجينى (I) الأقل دفاعاً (رمادى غامق) فى البيئات ذات المستويات العالية من المنافسة والجفاف وهجوم الممرض (الخط المنقط على اليمين) . هذا ولو أنه فى

البيئات ذات المستويات العالية من هجوم أكل النبات (الخط المنقط على اليسار) تكون لياقة الطرز الجيني (II) أكبر من الطرز الجيني (I) . فى البيئات متوسطة الإجهاد (فى الوسط مع المناطق المتداخلة) فإن الطرازين يكون لهما مستويات لياقة متشابهة .

من جهة أخرى فإن التحفيز بذاته قد يكون صفة أو خاصية مكلفة يصعب فحصها بسبب أن هذه التكاليف تحتاج لفصلها عن تكاليف إنتاج الدفاع وغيرها من الصفات المحفزة . تكاليف صيانة نظم التأشير المطلوبة والتي تختار من العمليات الخاصة بالتطور يفترض أن تكون صغيرة بوجه عام . لقد اقترحت بعض الدراسات أن مرونة الطرز الفينولوجية المورثة لتعبير الدفاع مكلفة ولكن ميكانيكية التأثير تظل غير واضحة . الخلفية الواضحة للتحفيز تتمثل فى التنشيط المتأخر للدفاعات وأن النباتات قد توائم فوائد التحفيز بواسطة زيادة مقدرتها على التنبؤ بالهجوم من الأعداء الطبيعية . الميكانيكيات المؤثرة لهذه الظاهرة قد تكون فيما يعرف باسترقاق السمع Eaves dropping على النباتات المجاورة للإشارات المنبعثة بواسطة النباتات التى هوجمت (مثل Me JA أو VOC) أو ذاكرة المهاجمات السابقة . كمثال فإن النباتات التى تستجيب لهجوم الممرض مع زيادة المقاومة لهجوم ممرض فى المستقبل والذي يرجع إلى استجابة سريعة وقوية لجينات دفاع خاصة . هذا الإبداع يستخدم مكونات اشارية خاصة ويكون أقل تكلفة عن الدفاع المحفز المنشط ولو انه يقدم مقاومة متشابهة . على نفس المنوال فإن النباتات التى تعودت على هجوم آكلات النباتات يمكن أن تتحقق بواسطة هجوم أكل نبات أقل ضراوة ضد هجوم أنواع أكثر ضراوة من آكلات النباتات . مازلنا فى حاجة لتعلم الكثير عن الميكانيكيات التى بواسطتها تقوم النباتات وبسرعة بضبط الطرز الفينولوجية للبيئات التى تعيش فيها .

٥- المنظورية Perspectives

الدليل الرياضى لتكاليف الدفاع المحفز مازال مقلوباً رأساً على عقب كما يتطلب الأمر مزيد من البحوث المكثفة لاختبار المفاهيم المختلفة عن التكاليف وفوائد الدفاع المحفز . فهمنا للمركبات المحفزة ونظم التأشير ومسارات التمثيل المشاركة زادت بشكل كبير كما أن التقدم فى الطرق الجزيئية مكن من عزل الصفات كل على حدة وتتابعاتها للياقة الكائن تبعاً لقانون داروين وتقديرها . النموذج البسيط للدفاعات الداخلية المكلفة يتفق مع التعقيدات التى تضبط بها النباتات تمثيلها استجابة لهجوم آكلات النباتات ولغيرها من الاجهادات البيئية الأخرى . لذلك فإن البحث عن دليل بسيط للارتباطات السالبة بين مستوى الدفاع واللياقة ليس كافياً للاختبار الدقيق لتكاليف الدفاع الموجودة . التحليل فى حاجة للاجراء على مستويات مختلفة من خلال فحص ميكانيكيات التمثيل الجارية وتتابعاتها على أداء الكائن فى مدى من البيئات التى يميل النبات للتعود عليها فى الطبيعة . الوسائل الجزيئية والتحليل المقنن فى مناطق النقل والتمثيل تقدم رؤى فى ضوابط التمثيل جنباً إلى جنب مع اقترابات المناورة مثل إخماد الجين ويصبح فى الإمكان فحص الارتباطات فى حزمة التمثيل المسؤولة عن الطرز الفينولوجية . بالإضافة لذلك فإن التقدم

في طرق التحليل سوف يسمح بتتقية الفرضيات حول المخرجات التي تحدث على مستوى الكائن الشامل . اقتراب التحول الجيني الخاص بتغيير صفة خاصة للدفاع سوف يسمح بتقدير الوظائف والمخرجات فيما بين الصفات تحت الظروف الطبيعية . الدراسات الكمية تناولت ميكانيكيات نشوء الاستجابات المحفزة .

References

- Agrawal AA, Strauss SY, Stout MJ (1999) Costs of induced responses and tolerance to herbivory in male and female fitness components of wild radish. *Evolution* 53:1093-1104
- Agren J, Schemske DW (1993) The cost of defense against herbivores: an experimental study of trichome production in *Brassica rapa*. *Am Nat* 141:338-350
- Baldwin IT (1989) Mechanism of damage-induced alkaloid production in wild tobacco. *J Chem Ecol* 15:1661-1680
- Cipollini DF (2002) Does competition magnify the fitness costs of induced responses in *Arabidopsis thaliana*? A manipulative approach. *Oecologia* 131:514-520
- Dicke M, Sabelis MW (1992) Cost and benefits of chemical information conveyance: proximate and ultimate factors. In: Roitberg BD, Isman MB (eds) *Insect chemical ecology. An evolutionary approach*. Chapman and Hall, New York, pp 122-155
- Feeny P (1976) Plant apparency and chemical defense. *Recent Adv Phytochem* 10:1-40
- Glawe GA, Zavala JA, Kessler A, Van Dam NM, Baldwin IT (2003) Ecological costs and benefits correlated with trypsin protease inhibitor production in *Nicotiana attenuate*. *Ecology* 84:79-90
- Halitschke R, Baldwin IT (2004) Jasmonates and related compounds in plant-insect interactions. *J Plant Growth Regul* 23:238-245
- Karban R, Agrawal AA, Mangel M (1997) The benefits of induced defenses against herbivores. *Ecology* 78:1351-1355
- Lerdau M, Litvak M, Monson R (1994) Plant chemical defense: monoterpenes and the growth-differentiation balance hypothesis. *Trends Ecol Evol* 9:58-61
- McKey D (1974) Adaptive patterns in alkaloid physiology. *Am Nat* 108:305-320

- Mitchell-Olds T, Schmitt J (2006) Genetic mechanisms and evolutionary significance of natural variation in *Arabidopsis*. *Nature* 441:947-952
- Ohnmeiss TE, Baldwin IT (2000) Optimal defense theory predicts the ontogeny of an induced nicotine defense. *Ecology* 81:1765-1783
- Plagnol V, Padhukasahasram B, Wall JD, Marjoram P, Nordborg M (2005) Relative influences of crossing-over and gene conversion on the pattern of linkage disequilibrium in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 172:2441-2448
- Redman AM, Cipollini DF, Schultz JC (2001) Fitness costs of jasmonic acid-induced defense in tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Oecologia* 126:380-385
- Simms EL, Rausher MD (1987) Costs and benefits of plant resistance to herbivory. *Am Nat* 130:570-581
- Tian D, Traw MB, Chen JQ, Kreitman M, Bergelson J (2003) Fitness costs of R-gene mediated resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 423:74-77
- Van Dam NM, Baldwin IT (1998) Costs of jasmonate-induced responses in plants competing for limiting resources. *Ecol Lett* 1:30-33
- Vrieling K, DeJong TJ, Klinkhamer PGL, Van der Meijden E, Van der Veen van Wijk CAM (1996) Testing trade-offs among growth, regrowth and anti-herbivore defenses in *Senecio jacobaea*. *Entomol Exp Appl* 80:189-192
- Wu J, Hettenhausen C, Meldau S, Baldwin IT (2007) Herbivory rapidly activates MAPK signaling in attacked and unattacked leaf regions but not between leaves of *Nicotiana attenuate*. *Plant Cell* 19:1096-1122
- Zavala JA, Baldwin IT (2004) Fitness benefits of trypsin proteinase inhibitor expression in *Nicotiana attenuate* are greater than their costs when plants are attacked. *BMC Ecol* 4:11
- Zangerl AR, Bazzaz FA (1992) Theory and pattern in plant defense allocation. In: Fritz RS, Simms EL (eds) *Plant resistance to herbivores and pathogens. Ecology, evolution, and genetics*. University of Chicago Press, Chicago, IL, pp 363-391

الباب الرابع

الدفاعات المحفزة المباشرة التشريحية Anatomical defenses

أولاً : تكوين الزوائد الشعرية على الأوراق ومقاومة النباتات لآكلات العشب

Peter Dalin , Jon Agren , Christer Bjorkman , Piritta Huttunen and Katri Karkkainen

شعيرات الأوراق تساهم في تحقيق مقاومة النبات ضد آكلات الأوراق . في العديد من الأنواع النباتية فإن كثافة الشعيرات في الأوراق الجديدة تزداد بعد الضرر الذي تحدثه آكلات الأوراق . في هذا المقام سوف نقوم باستعراض الأساس الوراثي لإنتاج الشعيرات " الترايكوم " والأهمية الوظيفية والتكيف لتكوين الشعيرات تركيبياً وتحفيزياً . سوف نركز على شعيرات الأوراق وإنتاجها استجابة للتلف من جراء هجوم آكلات النباتات . الأساس الوراثي لإنتاج الشعيرات درس ووصف بالتفصيل في النوع النموذج Arabidopsis thaliana . أظهرت الدراسات الحديثة أن شبكات التشريح التي تحكم تطور الشعيرات تتفاوت وأن إنتاج الشعيرات تنشأ تكرارياً بين كاسيات البذور Angiosperms إنتاج الترايكوم المحفز وجد مرتبطاً بزيادة مستويات حمض الجسمونيك في نبات ارابيدوبسيس مما يوضح وجود رابطة شائعة مع التغيرات الأخرى في خصائص المقاومة . التلف من هجوم آكلات الأوراق في الغالب يرتبط سلبياً بإنتاج الشعيرات وتحفيز إنتاج الشعيرات يعتبر ميزة حيث تزيد من المقاومة ضد آكلات الأوراق . هناك قليل من الدراسات توضح التكاليف والفوائد لإنتاج الشعيرات المحفز من ناحية لياقة النبات . كثافة الشعيرات تؤثر على التداخلات مع الحشرات آكلة الأوراق ولكنها قد تؤثر كذلك على وفرة وكفاءة المفترسات وأشباه الطفيليات التي تتغذى على آكلات النباتات وتحمل الإجهادات اللا حيوية .

P. Dalin

Marine Science Institute , University of California , Santa Barbara ,
CA 93106-6150 , USA .

e-mail : dalin@msi.ucb.eu

A. Schaller (ed.), Induced Plant Resistance to Herbivory , © Spring
Science + Business Media B.V. 2008

١ - مقدمة

الترايكومات عبارة عن زوائد تشبه الشعر تتطور من الخلايا للبشرة الهوائية وتنتج بواسطة معظم الأنواع النباتية . ترايكومات الأوراق تستطيع تأدية وظائف متعددة تتضمن الحماية ضد الضرر الذى تحدثه آكلات الأوراق (Levin , 1973) . بينما أن معظم النباتات تنتج الترايكومات تكوينيا فإن بعض الأنواع تستجيب للضرر عن طريق زيادة كثافة الشعيرات فى الأوراق الجديدة . الهدف من هذا الاستعراض تناول العمليات التى تؤثر على تكوين الترايكوم وأهمية هذه الزوائد الشعيرية فى المقاومة النباتية ضد الآفة أو الآفات . سوف نركز أساساً على ترايكومات الأوراق وإنتاجها استجابة للتلف الذى تحدثه الحشرات آكلات الأوراق . سوف تكون البداية استعراض مختصر للفهم الجارى للأسس الوراثية لتكوين الترايكومات . بناء على الدراسات المرجعية والبيانات المتاحة سنقوم بتناول الزيادة فى الإنتاج المحفز للترايكومات وعلاقتها بكمية الضرر والأساس الهرمونى لإنتاج هذه الترايكومات المحفز بالضرر . بعد ذلك سنناقش تأثيرات الإنتاج المحفز للترايكومات على التداخلات مع الحشرات آكلة النباتات وأعدائها الطبيعية وكذلك على لياقة النبات . فى النهاية سوف نقوم بتعريف المشاكل ومدى الحاجة لدراسات إضافية لتحقيق فهم أفضل عن الوظائف والتكيف للإنتاج المحفز للترايكومات فى النباتات .

مورفولوجى (الشكل الخارجى) وكثافة الترايكومات تختلف وتتفاوت بشكل كبير بين الأنواع النباتية وقد تختلف كذلك بين المجاميع النباتية وفيما داخل النوع نفسه . تركيب الترايكومات يتراوح من خلية واحدة وحتى الخلايا العديدة كما أن الترايكومات قد تكون مستقيمة أو حلزونية أو خطافية أو متفرعة أو غير متفرعة . بعض الترايكومات لها غدد تطلق نواتج تمثيل ثانوية (مثل التربينات والالكالويدز) التى تكون سامة أو طاردة أو تصطاد الحشرات وغيرها من الكائنات الحية . يشار إلى هذه الترايكومات بالترايكومات الغدية (Duffey, 1986) . فى بعض الأنواع فإن النباتات الفردية تنتج كلا الترايكومات الورقية الغدية وغير الغدية .

إنتاج الترايكوم مكون هام للمقاومة ضد الحشرات آكلة النباتات . التلف بسبب العديد من آكلات النباتات الحشرية يرتبط سلبياً بكثافة الشعيرات . الشكل غير الشعري Glabrous لنبات ارابيدوبسيس المعمر يضار أكثر بواسطة الحشرات عن الشكل المنتج للترايكومات حيث أن إزالة ترايكومات الأوراق أدت إلى زيادة تغذية ونمو آكلات الأوراق من الحشرات فى العديد من الأنواع النباتية المختبرة . بالإضافة إلى ذلك فإن العديد من الأنواع النباتية تستجيب للتلف الذى تسببه آكلات الأوراق عن طريق إنتاج أوراق جديدة بها زيادة فى كثافة وأعداد الترايكومات (جدول ٤-١) والحشرات التى تتغذى على النباتات المحفزة فى الغالب تستهلك مجموع خضرى أقل وتنمو بدرجة أقل بالمقارنة

بالحشرات التى تتغذى على نباتات غير محفزة . لقد أظهرت هذه الدراسات أن إنتاج ترايكومات الأوراق تساهم فى الوقاية ضد الحشرات آكلة النباتات .

ترايكومات الأوراق قد تزيد المقاومة للجهازات اللا حيوية هذه الترايكومات قد تزيد من تحمل الجفاف عن طريق خفض امتصاص أشعة الشمس وزيادة طبقة حد سطح الورقة وبواسطة تسهيل تكثيف رطوبة الهواء على سطح النبات . الترايكومات قد تحمى كذلك الخلايا الحية من الضرر المتسبب بواسطة الأشعة فوق البنفسجية من الشمس ومن درجات الحرارة المنخفضة . هذا يعنى أن الترايكومات لها وظائف متعددة وأن كثافة الترايكومات قد تشترك فى الاستجابة للتغيرات فى العديد من العوامل البيئية . بوجه عام فإن النباتات ذات الكثافة العالية من الترايكومات يتوقع وجودها فى البيئات الجافة أو الباردة حيث تكون الأشعة فوق البنفسجية كثيفة وفى المناطق التى تكون فيها مخاطر التلف بواسطة الحشرات آكلة الأوراق عالية .

جدول (٤-١) : الزيادة المحفزة فى كثافة الترايكوم المسجلة بعد الجرح الصناعى والتلف بواسطة الحشرات آكلة النباتات

المراجع	زيادة كثافة الترايكوم.		تلف النسيج	معاملة التناقص			الأنواع النباتية
	التوقيت	الكمية		الكمية	البيئة	التلف	
	Increase in trichome density				Defoliation treatment		Plant Species (life history) ¹
	Timing	Magnitude	Tissue damaged	Amount	Environment	Damage	
Traw and Bergelson (2003)	Week	25%-117%	Leaves	Pinching	Lab	Artificial	<i>Arabidopsis thaliana</i> (a)
Baur et al. (1991)	2%-4 Weeks	500%	Leaves	30%-100%	Field	Coleoptera	<i>Alnus incana</i> (P)
Traw and Dawson (2002a)	Week	76%	Leaves	25%	Lab	Lepidoptera	<i>Brassica nigra</i> (a)
Traw and Dawson (2002a)	Week	113%	Leaves	25%	Lab	Lepidoptera	<i>Brassica nigra</i> (a)
Traw and Dawson (2002a)	Weeks	No induction	Leaves	17%	Lab	Coleoptera	<i>Brassica nigra</i> (a)

تابع جدول (٤-١) : الزيادة المحفزة في كثافة الترايكوم المسجلة بعد الجرح الصناعي والتلف بواسطة الحشرات آكلة النباتات							
الأنواع النباتية	معاملة التساقط			تلف النسيج	زيادة كثافة الترايكوم		المراجع
	التلف	البيئة	الكمية		الكمية	التوقيت	
<i>Brassica nigra</i> (a)	Lepidoptera	Lab	25%	Leaves	43%	4%-5 weeks	Traw and Dawson (2002a)
<i>Brassica nigra</i> (a)	Coleoptera	Lab	25%	Leaves	No induction	4%-5 weeks	Traw and Dawson (2002a)
<i>Brassica nigra</i> (a)	Lepidoptera	Lab	25%	Leaves	38%	2%-3 weeks	Traw 2002
<i>Betula pubescens</i> (P)	Artificial	Field	50%	Leaves	300%	2%-7 Weeks 1998	Rautio et al, (2002)
<i>Betula pubescens</i> (P)	Artificial	Field	100%	Leaves	1000%	2%-7 Weeks 1998	Rautio et al, (2002)
<i>Betula pubescens</i> (P)	Artificial	Field	50%	Leaves	No induction	2%-7 Weeks 1999	Rautio et al, (2002)
<i>Betula pubescens</i> (P)	Artificial	Field	100%	Leaves	No induction	2%-7 Weeks 1999	Rautio et al, (2002)
<i>Betula pubescens</i> (P)	Artificial	Field	< 25%	Leaves	10%-20%	Next year	Valkama et al. (2005)
<i>Betula pubescens</i> (P)	Artificial	Field	10 cm	Shoots	No induction	Next year	Valkama et al. (2005)
<i>Cnidoscolus texanus</i> (P)	Livestock	Field	No info	Shoots	38%	No info	Pollard (1986)
<i>Lepidium virginicum</i> (a)	Lepidoptera	Lab	20%-25%	Leaves	60%	2 weeks	Agrawal (2000)
<i>Rophanus rophanistrum</i> (a)	Lepidoptera	Lab	50%	Leaves	25%-100%	3 weeks	Agrawal (1999)

تابع جدول (٤-١) : الزيادة المحفزة فى كثافة الترايكوم المسجلة بعد الجرح الصناعى والتلف بواسطة الحشرات آكلة النباتات

الأنواع النباتية	معاملة التساقط			تلف النسيج	زيادة كثافة الترايكوم		المراجع
	التلف	البيئة	الكمية		الكمية	التوقيت	
<i>Salix borealis</i> (P)	Coleoptera	Field	100%	Leaves	51%-300%	Next year	Zvereva et al. (1998)
<i>Salix cinerea</i> (P)	Coleoptera	Lab	5%	Leaves	72%	3 weeks	Dalin and Bjorkman (2003)
<i>Salix cinerea</i> (P)	Artificial	Lab	5%	Leaves	No induction	3 weeks	Dalin and Bjorkman (2003)
<i>Salix cinerea</i> (P)	Coleoptera	Lab	10%	Leaves	93%	3 weeks	Dalin and Bjorkman (2005)
<i>Salix cinerea</i> (P)	Coleoptera	Lab	3%	Leaves	83%-186%	3 weeks	Dalin and Bjorkman (2008)
<i>Salix viminalis</i> (P)	Coleoptera	Lab	5%-25%	Leaves	13%	3 weeks	Dalin et al. (2004)
<i>Urtica dioica</i> (P)	Artificial	Field	> 50%	Shoots	140%-790%	10 weeks	Pullin and Gilbert (1989)
<i>Urtica dioica</i> (P)	Artificial	Lab	> 50%	Shoots	23%-106%	10 weeks	Pullin and Gilbert (1989)
<i>Urtica dioica dioica</i> (P)	Artificial	Lab	50%	Leaves	26%	5-7 Weeks	Mutikainen and Walls (1995)
<i>Urtica dioica dioica</i> (P)	Artificial	Lab	No info	Apical buds	Non induction	5-7 Weeks	Mutikainen and Walls (1995)
<i>Urtica dioica sondenii</i> (P)	Artificial	Lab	50%	Leaves	Non induction	5-7 Weeks	Mutikainen and Walls (1995)
<i>Urtica dioica sondenii</i> (P)	Artificial	Lab	No info	Apical buds	50%	5-7 Weeks	Mutikainen and Walls (1995)

The life history of the different plant species is indicated as (P) for perennial , or (a) for annual .

٢- تكوين ترايكوما الورقة Leaf Trichome Formation

٢-١- الأساس الجزيئي لتكوين ترايكوم الأوراق

الترايكومات تنشأ في بشرة الأوراق النامية : بعض خلايا البشرة تنمو في خلايا الترايكوم حيث الخلايا المحيطة تنمو في خلايا البشرة المنتظمة . الفهم الحالي لتكوين الترايكوم مبني على دراسات نماذج أنواع قليلة . بوجه خاص فإن تكوين الترايكوم في نباتات أرابيدوبسيس ثاليانا قد استخدم كنموذج لدراسة الميكانيكيات التطورية والخلوية في النباتات . في نبات الأرابيدوبسيس تكون الترايكومات غير غدية وخلايا مفردة كبيرة تحاط بخلايا بشرة مساعدة على الأوراق الوردية والسيقان وأوراق الساق والسبلات . مع دراسة الطفرية توجد دسات من الجينات تشترك في إنشاء الترايكوم والفراغات والشكل تم تعريفها في الأرابيدوبسيس . الدراسات الحديثة على هذا النبات وأقرانه أوضحت أن التباين في بعض الجينات نفسها مكن أن تفسر الاختلافات في تكوين الترايكوم في المجاميع الطبيعية .

الدراسات على الأساس الوراثي لإنشاء الترايكوم عرفت الجينات التي :

أ - تتحكم في الدخول في مسار الترايكوم .

ب- التحكم في مسافات أو فراغات الحوادث الإنشائية .

الفقد في الطفرات الوظيفية في نباتات الأرابيدوبسيس أدى إلى الاقتراح بأن الجينات GLI GIABROUS I (GLI) و TRANSPARENT TESTA GIABRAI (TTGI) هامة للإنشاء ومسافات ترايكومات الأوراق . GLI يشفر نسخ العامل Myb - transcription والتي يعبر عنها انتشاريا في الأوراق النامية . TTGI يعبر عنها في معظم الأعضاء النباتية الكبرى ويشفر للبروتين المحتوى على 40 - WD المكرر وهو مطلوب لإنشاء خلايا الترايكوم في الأوراق وتكوين الخلايا عديمة الشعر (Atrichoblast) في الجذور وتخليق الأنثوسيانين في الأوراق وتكوين فيلم من طبقة هلامية Mucilage في البذور النامية . في النشأة العادية للترايكوم فإن الجينات GIABROUS 3 (GL3) و HANCER OF GIARRA 3 (EG13) والتي تشفر بروتينات Helix - loop - helix (bHLH) مطلوبة كذلك . الجينات GL1 و TTG1 ذات مقدرة للنشأة العادية للترايكوم جنباً إلى جنب مع الجينات الأخرى مثل CRPRICE (CPC) و TRIPTYCHNO (TRY) المعروف أنها تحفز دور الخلايا الشعرية للجذر . الجين GLABROU 2 GL2 ينظم بشكل كمي تكرارية نشوء الترايكوم ويشترك في تحديد المسافات بين الشعيرات وتطور شعيرات الجذور ولكنه يشترك كذلك في السيطرة

والتحكم على تراكم الزيت في البذور . لذلك فإن العديد من الجينات التي تشترك في نشوء الترايكوم والمسافات بينها تنظم كذلك صفات فينولوجية هامة أخرى والتي قد تتحدى نشوء الجينات والصفات .

ولو أن الفهم الجارى للأساس الجينى لنشوء الترايكوم وتحديد المسافة بين الشعيرات تعتمد لحد كبير على دراسات الطفرية في نبات الأرابيدوبسيس فإن بعض المعلومات متاحة كذلك لأنواع نباتية أخرى . نشوء الترايكوم في القطن يبدو أنه نظم بواسطة معقد Multimeric مشابه بين MYB , bHLR وبروتينات WD المكررة كما في نبات الأرابيدوبسيس . مقارنات التتابع والتحليل الوظيفي أدى إلى الاقتراح بأن الجينات المسؤولة عن تكوين الترايكوم في هذا النبات (وربما في القطن) قد تنشأ من تضاعف وإعادة وظيفية الجينات المشاركة في إنتاج الأنثوثيانين والفلافينويدز بينما الجينات المشتركة في تكوين قرائن الترايكومات متعددة الخلايا في نبات نيكوتينيا وأنتريهينيوم ذات أصول مختلفة . لذلك فإن إنتاج الترايكوم يبدو أنها تنشأ مرات عديدة مما أدى إلى الاقتراح بأنه يحدث نشوء متقارب Convergent .

٢-٢- الأساس الوراثي للتباين الطبيعي في إنتاج الترايكوم

كلا إنتاج الترايكوم كما في (إنتاج الترايكوم في مقابل عدم وجود الشعر) ونوع الترايكومات الناتجة (الغدية في مقابل غير الغدية) قد تختلف داخل النوع النباتي . العديد من الأنواع النباتية عديدة التشكل Polymorphic لإنتاج الترايكوم مع الأشكال المنتجة للترايكوم والأشكال العادية بدون شعر . في العديد من الأنواع فإن تكرارية إنتاج الترايكوم تتفاوت أشكالها جغرافياً فيما بين وداخل أماكن الوجود . أظهر التحليل الوراثي أن وراثية الشكل العادي بسيطة في العديد من الأنواع (جين واحد مع اليلات متحية للعرى أو عدم وجود الشعيرات . في نباتات A. Lyrata أظهر التحليل الارتباطي للتباين الفينولوجي والتباين الوراثي في الجينات المتقابلة أن التشكل المتعدد في إنتاج الترايكوم تسبب بواسطة التباين في الجين GLABROUSI وتحليل التتابع أدى إلى الاقتراح بأن الطفرات المستقلة العديدة في نفس الجين تسبب العرى في المجاميع الطبيعية المختلفة لنباتات A.thaliana , A. lyrata . التشكل المتعدد في مورفولوجي الترايكوم (الترايكومات العذبة في مقابل غير العذبة) يمكن أن تورث تبعاً لطرز مندل البسيط كما سجل مع Datura Wrightii .

عدد الترايكومات الناتجة وكثافة الترايكوم تختلف وراثياً داخل الأنواع العديدة . الدراسات الوراثية الكمية أظهرت تباين وراثي وفير في عدد الترايكوم وكثافتها . الدراسات الكمية QTL أجريت لمعرفة الأساس الوراثي بين اختلافات المجموع في تكوين الترايكوم. في نباتات أرابيدوبسيس ثاليانا التحليل الكمي QTL للعبور بين مدخلين يعرفا QTL الأكبر لعدد الترايكوم (عدد الترايكوم الناقص RTN) الذي يفسر ٧٠% من

التباين في عدد الترايكومات الناتجة . الدراسات الحادثة عن العبور بين مدخلات أخرى لنباتات الارابيدوبسيس كشفت عن QTL إضافية (مع بعضها ٩ من QTL في أربعة عبورات مختلفة معظمها كانت مشاركة بين المجاميع . النتائج الأولية من العبورات مع QTL وفي داخل المجموع في نباتات A.Lyrata أدت إلى الاقتراح بأن عدد محدود من الشواهد تساهم في حدوث التباين في عدد الترايكومات الناتجة وأن بعض الجينات تتعزل في العديد من المجاميع في هذا النوع النباتي .

٣- الإنتاج المحفز للترايكوم Induced trichome production

٣-١- إنتاج الترايكوم المحفز بالتلف Damage induced

كلا الجرح الصناعي والتلف الذي تحدثه آكلات الأوراق تعمل على تحفيز الزيادة في كثافة الترايكوم وتحفيز إنتاج الترايكوم وهذا ما لوحظ في كلا النباتات الحولية والمعمرة (جدول ٤-١) . الكمية التي أعلنت عن الزيادة في كثافة الترايكوم وجدت تتراوح من ٢٥% وحتى ١٠٠% ولكن في بعض الحالات تكون أكبر وحتى ٥٠٠% إلى ١٠٠٠% (جدول ٤-١) . الاستجابات تتضمن في الغالب التغيرات في كثافة الترايكوم الذي يعبر عنه خلال أيام أو أسابيع . في بعض الأشجار الخشبية المعمرة تكون الاستجابة متأخرة ولا تلاحظ حتى السنة التي تلي الهجوم الأول . التلف يمكن أن يحفز كذلك التغير في النسب النسبية للترايكومات الغذائية وغير الغذائية (Rautio et al. 2002) .

الإجهاد اللا حيوي مثل الجفاف والتعرض للأشعة فوق البنفسجية UV قد تؤثر على تكوين الترايكوم كما أن الظروف اللا حيوية قد تحور الاستجابات المحفزة بالتلف في كثافة الترايكوم . كمثال أوضح (Bjorkman et al. 2008) أن الزيادة في إنتاج الترايكوم المحفز بواسطة خنفساء الورق الآكلة للنباتات في نبات الصفصاف تكون أقوى في الظل عنه تحت التعرض لضوء الشمس المباشر مما أدى إلى الاقتراح بأن النباتات تستثمر مصادر أكثر في الدفاع بالترايكوم عندما تنمو في الظل . جميع الدراسات الخمسة والتي حدثت بها زيادة في ترايكومات الأوراق بأكثر من ٢٠٠% بعد الضرر أجريت في الحقل . ولو أن البيانات الرياضية مازالت قليلة فإنه مازالت هناك حاجة لدراسات إضافية عن كيفية تأثير الظروف اللا حيوية على الاستجابات المحفزة بالضرر في تكوين الترايكوم .

لم يلاحظ أن التلف يحفز تكوين الترايكوم في جميع الدراسات (جدول ٤-١) . تصف الدراسات المستقلة الخمسة عشر الموجودة في الجدول والتي فيها أجريت عمل جروح صناعية بغرض التجريب (مثل تشويه الأوراق Clipping) أشارت إلى حدوث زيادة كثافة الترايكوم . بالإضافة إلى ذلك فإن تأثير التلف على إنتاج الترايكوم قد يختلف اعتماداً على نوع أكل الأوراق وليس كل الحشرات آكلة العشب تحفز التغير في تكوين الترايكوم . الجروح الصناعية تختلف عن التلف الذي يحدث من تغذية الحشرات من عديد

من النواحي والتي قد تقلل من فرص الكشف عن الاستجابات المحفزة . بالإضافة إلى ذلك فإن نظم تغذية الحشرات تتفاوت خاصة فيما بين نظم التغذية (مثل القارضات وصانعات الأنفاق والثاقبات) والتي قد تؤثر على كيفية استجابة النباتات للتلثف . مازالت هناك حاجة لمزيد من الدراسات لفحص الدرجة التي عندها تتفاوت الاستجابات مع نوع الضرر وما إذا كانت النباتات تستفيد من الاستجابة بشكل مختلف للأنواع المختلفة من الضرر أو التلثف.

٣-٢ - التنظيم الهرموني للإنتاج المحفز للترايكوم

أظهرت الدراسات الحيوية على نبات الأرابيدوبسيس أن العديد من شبكات التنظيم قد تؤثر على الزيادة في إنتاج الترايكوم المحفز بالضرر . حمض الجسمونيك ينظم التعبير الجهازى للدفاعات الكيميائية والضرر بواسطة آكلة العشب وكذلك الجروح الصناعية تسبب زيادة سريعة في حمض الجسمونيك . فى نبات الأرابيدوبسيس ثاليانا التالف صناعياً ولكن مع استخدام حمض الجسمونيك والجبريللين تزيد من إنتاج الترايكوم فى الأوراق الجديدة . من جهة أخرى فإن استخدام حمض السالسليك يقلل من إنتاج الترايكوم ويثبط الاستجابة لحمض الجسمونيك والتي تتوافق مع اللغة العبورية السالبة بين المسارات التي تعتمد على الجسمونات والساليسيلات فى نبات الأرابيدوبسيس . تركيز حمض الساليسليك يزيد بشكل تقليدى استجابة للإصابة بالمرضات حيوية التغذية ولكنها قد تزيد كذلك استجابة للضرر الذى يتسبب بواسطة بعض آكلات العشب . هذا أدى إلى الاقتراح بأن تحفيز الزيادة فى إنتاج الترايكوم يتأثر بواسطة التداخلات مع كلا آكلات العشب والمرضات وهو يختلف اعتماداً على كثافة آكلات الأعشاب .

٤ - ترايكومات الأوراق ومقاومة النبات

٤-١ - التأثيرات على سلوك وأداء أكل العشب

الترايكومات تؤثر على تبويض الحشرات و / أو التغذية فى مدى عريض من الحشرات وآكلات العشب الأخرى (Levin , 1973) . الترايكومات غير الغدية تعمل أساساً كوسيلة دفاع تركيبية ضد آكلات العشب الصغيرة . الترايكومات تتداخل مع حركة الحشرات ومفصليات الأرجل الصغيرة على سطح النبات وتجعله أكثر صعوبة على الحشرات لجعل بشرة الورقة لتحت التغذية (Southwood , 1986) . فى الغالب تتكون الترايكومات من السليلوز ومواد أخرى تكون قيمة غذائية منخفضة للحشرات . الحشرات التي تحتاج للتغذية خلال الترايكومات قبل نماء بشرة الورقة يجب أن تكتسب وزن قليل وفى النهاية يزداد الموت . الترايكومات الغدية يمكن أن ينظر لها على أنها خليط من وسائل الدفاع التركيبية والكيميائية . هذا بسبب أن الترايكومات الغدية تطلق نواتج تمثيل ثانوية قد تكون سامة أو طاردة للكائنات آكلة العشب . الترايكومات اللاسعة مثل تلك التي

تنتج بواسطة نبات القراص (*Urtica dioica* (nettle) قد يطرد حتى آكلات الأعشاب الكبيرة.

وجود وكثافة ترايكومات الأوراق تؤثر على كلا السلوك الاختياري للعائل والنبات وكذلك الأداء (مثل النمو والبقائية والخصوبة) للحشرات آكلات النباتات ولكنها تعتبر كوسيلة خفيفة أو كسلاح خفيف Soft weapon بالمقارنة بالعديد من الصفات الأخرى القاتلة للحشرات . لقد ظهر نقد مفاده أن صفات الدفاع الضعيفة قد تؤثر على مدى عرض من الحشرات آكلات الأوراق لأنها أقل ميلاً للظهور مع التأقلم في الحشرات . كمثال يوجد عدد من الدراسات تقترح أن ترايكومات الأوراق تخفض من تغذية كلا الحشرات العامة والخاصة . لقد أوضح الباحث Agrawal عام (١٩٩٩) أن نوعين من حرشفية الأجنحة واحدة خاصة والأخرى عامة كلاهما تأثرتا سلبياً بواسطة التلف السابق على نباتات اللفت البري الذي كان مرتبطاً بزيادة كثافة وعدد الترايكومات على الأوراق . لقد أوضح Agrawal (٢٠٠٤) أن العديد من نظم تغذية الحشرات القارضة وصناعة أنفاق الأوراق تأثرت سلبياً بواسطة زيادة كثافة ترايكومات أوراق حشيشة اللبن . لذلك فإن الترايكومات غير الغدية قد تؤثر على التغذية بواسطة مدى عرض من الحشرات ومن ثم تخفض الضرر الكلى التي يتسبب بواسطة آكلات الأوراق .

الحشرات قد تنشئ صفات فسيولوجية وسلوكية تسمح لها بالتوافق مع دفاعات النبات التركيبية . كمثال العديد من حشرات البق (*Miridae*) ذات تراكيب خاصة على أرجلها تسهل لها الحركة بعد السطوح النباتية المغطاة بالترايكوم . خنفساء الأوراق *Phratora vudgatissima* لوحظ أنها تزيل الترايكومات غير الغدية عندما تتغذى على الأوراق لنبات الصفصاف *S.Viminalis* لم يلاحظ هذا السلوك عندما تغذت نفس الحشرة على الصفصاف *S.cinerea* الذي ينتج ترايكومات أقصر وأعرض مما يظهر صعوبة أكثر على اليرقات للتعامل معها أو لتناولها . نشوء أجزاء فم قوية بما فيه الكفاية للتعامل مع وسائل الدفاع النباتية التركيبية تعتبر أحد الميكانيكيات التي تستغلها الحشرات كما هو الحال مع ترايكومات الأوراق .

٤-٢ - التأثيرات على التداخلات ثلاثية التغذية

ترايكومات الورقة لا تؤثر على آكلات العشب فقط ولكنها تؤثر كذلك على أعدائها الطبيعية . من الناحية النظرية فإن التأثير على وفرة وفعالية الأعداء الطبيعية قد تكون متعادلة (لا تأثير) سالب أو موجب (الشكل ٤-١) . إذا افترضنا أن آكلات العشب تتأثر سلبياً بواسطة ترايكومات الورقة النباتية (الباراجراف العلوى فى الشكل ٤-١) فإن التأثير المتبادل على المستوى الغذائى الثالث سوف يؤدي إلى وجود أعداء طبيعية ذات تأثير إضافي على تلف النبات الذي يتسبب بواسطة آكلات العشب ولياقة النبات .

التأثير السالب على المستوى الغذائي الثالث سوف يعمل تضادياً . اعتماداً على الشدة النسبية للتأثيرات السالبة لترايكومات الورقة على آكلات العشب والأعداء الطبيعية فإن الارتباط بين كثافة الترايكوم والتلف قد يتفاوت بين السالب والموجب . تلف النبات قد يكون :

١- مرتبط سالبياً مع كثافة الترايكوم إذا كان التأثير على الأعداء الطبيعية أضعف من ذلك الذى يحدث على آكلات العشب (الخط المنقط) .

٢- لا يرتبط مع كثافة الترايكوم إذا كان التأثير على الأعداء الطبيعية وآكلات العشب متوازنة (الخط الصلب) .

٣- يرتبط إيجابياً مع كثافة الترايكوم إذا كان التأثير على الأعداء الطبيعية أقوى من التأثير على آكلات العشب (خط مشرط) .

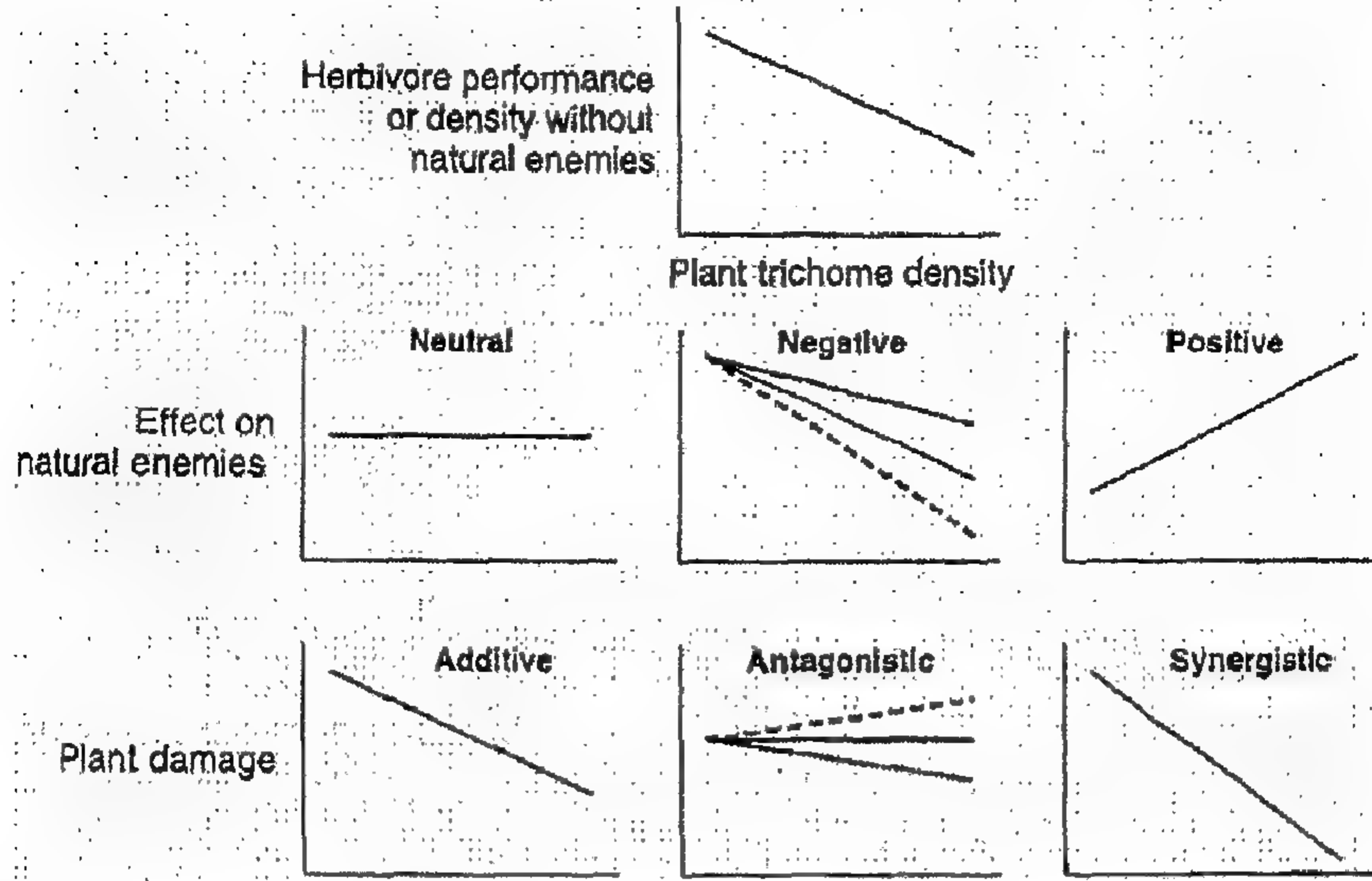
التأثير الموجب لترايكومات الأوراق النباتية على المستوى الغذائي الثالث يجب أن يؤدي إلى تأثير تنشيطى موجب على لياقة النبات . من منظور وقاية النبات هذا السيناريو الأخير قد يكون أكثر طلب ولكن لا يوجد إلا القليل من هذه الأمثلة .

فى معظم الدراسات التجريبية وجد أن وفرة وفعالية الأعداء الطبيعية ترتبط سالبياً مع كثافة ترايكومات النبات . فاعلية وكفاءة كلا المفترسات (٩ من ١٣ دراسة مرجعية) وأشباه الطفيليات (١٢ من ١٤ دراسة مرجعية) تأثرت سالبياً بسبب حدوث تثبيط للحركة وإطالة فترة البحث . كلا ترايكومات النبات الغدية وغير الغدية تستطيع إحداث هذه التأثيرات . الترايكومات الغدية بالإضافة إلى ذلك تؤثر على الأعداء الطبيعية سالبياً بواسطة :

أ - إطلاق مركبات طاردة أو سامة .

ب- تكون لاصقة وتحجب التحركات .

هذا ولو أن تأثير المواد اللاصقة الناتجة بواسطة الترايكومات الغدية قد تكون أقل أهمية فى بعض الأحيان فى الحقل حيث يكون التأثير اللاصق لإخراجات الترايكوم تتأثر سالبياً بواسطة الأتربة والرياح والمطر .



شكل (٤-١) : تمثيل بياني مبسط عن كيفية تأثير كثافة ترايكوم الورقة على وفرة أو فاعلية المفترسات وأشباه الطفيليات من آكلات العشب والتي قد تؤثر على العلاقة بين كثافة الترايكوم وتلف النبات الذي يتسبب بواسطة آكلات العشب (الخط الأسفل من الرسم) . الأعداء الطبيعية قد لا تتأثر أو قد تتأثر سلبياً أو إيجابياً بواسطة كثافة ترايكوم النبات (الخط الأوسط من الرسم) . الفرضية الأساسية تتمثل في أن كثافة ترايكوم النبات تؤثر سلبياً على أداء أكل العشب أو الكثافة (الجزء العلوى) مثل أن الترايكومات ذات تأثير بأن تعمل كصفة في المقاومة النباتية (Hare , 1992) .

في حالات قليلة وجد أن وفرة وكفاءة الأعداء الطبيعية ترتبط إيجابياً بكثافة ترايكومات النبات . كمثال فإن الباحث Styrsky وآخرون (٢٠٠٦) أشار حديثاً أن افتراس النمل النارى لآكلات العشب على فول الصويا كان أعلى على خطوط صنف فول الصويا ذات الكثافة العالية للترايكوم . الميكانيكية المقترحة كانت تتمثل في الاستجابة الوظيفية بواسطة النمل للوفرة العالية للديدان على النباتات الزغبية Pubescent . أشجار التفاح التى تنتج كثافة عالية من الترايكومات فيها وفرة عالية من الأكاروس المفترس عن أشجار التفاح ذات الكثافة المنخفضة من الترايكومات . لقد اقترح أن هذا يحدث بسبب أن النباتات الزغبية تصطاد حبوب لقاح وجراثيم فطرية أكثر والتي تعمل كغذاء بديل للمفترسات (Roda et al., 2003) . لقد أوضح الباحثان Lucas and Brodeur (1999) أنه بين نباتات البطاطس فإن الحشرة ملتهمة المن كانت أكثر وفرة على الأوراق ذات الكثافة العالية من الترايكوم . لقد اقترح الباحثان أن نقص خطورة الافتراس ما بين النظام الغذائي بواسطة مفترسات أبى العيد والكثافة العالية للطعام (المن) على الأوراق ذات الكثافة العالية من الترايكوم قد تساهم في هذا النظام . فى النهاية فإن إخراجات ترايكوم الورقة قد يعمل كرحيق لشبيه طفيل البيض Scelonid لبق الكوسة . الإناث

البالغة لشبيهه الطفيل تعيش طويلاً عندما تكون يتوفر لها أوراق الكوسة عما هو الحال عندما يقدم لها ماء فقط وهذا يزيد في حالة ما يكون الدوام كافياً بما يسمح بحدوث التكاثر والخصوبة للحد الأقصى.

في حالات قليلة وجد أن وفرة وكفاءة أشباه الطفيليات والمفترسات لا ترتبط بكثافة ترايكومات الأوراق وقد يكون ذلك بسبب رفض تسجيل البيانات السالبة .

كثافة الضحية أو العوائل قد تؤثر على دور الترايكومات على المفترسات وأشباه الطفيليات ولكن يبدو أن العلاقة متخصصة النظام . في بعض الدراسات كان تأثير الترايكومات على الأعداء الطبيعية واضحاً فقط عند الكثافات العالية من الضحية / العائل بينما في دراسات أخرى لوحظ هذا التأثير في حالة الكثافات المنخفضة فقط .

٤-٣- الدور المؤثر للتكيف للإنتاج المحفز للترايكوم في النباتات

الدور المؤثر للضرر المحفز الزيادة في إنتاج الترايكوم يعتمد على الفوائد والتكاليف المرتبطة مع هذا التغير في الطرز الفينولوجية . النباتات التي تحفز لزيادة ترايكوم الورقة في الغالب تعاني من تلف أقل بواسطة الحشرات عن النباتات غير المحفزة . لقد أدى ذلك إلى الاقتراح أن النباتات يجب أن تستفيد من الإنتاج المحفز للترايكوم طالما كانت تكاليف اللياقة المرتبطة بزيادة إنتاج الترايكوم لا تزيد عن الفوائد من خفض الضرر . لقد أوضح (Agrawal 1999) أن نباتات الفجل البري المحفزة تعاني من ضرر أقل بواسطة أنواع الحشرات وتنتج بذور وثمار أكثر عن النباتات غير المحفزة . اللفت البري يستجيب لآكل العشب بواسطة إنتاج أوراق جديدة مع زيادة كثافة الترايكوم ولكن مع زيادة جهازية كذلك في تركيزات نواتج التمثيل الثانوية : لذلك فإنه ولو أن هذه الدراسة أظهرت بوضوح أن النباتات تستفيد من الاستجابات المحفزة ومن ثم تكون هناك حاجة لدراسات لاحقة لتمييز تأثيرات زيادة إنتاج الترايكوم على اللياقة عن تلك الاختلافات المحفزة في جودة النبات في هذا النوع والأنواع الأخرى .

بعيداً عن خفض الضرر الشامل فإن الإنتاج المحفز للترايكوم قد يحول التلف بعيداً من الأجزاء الأكثر قيمة من النبات ويجعل الحشرات تتغذى على أجزاء أخرى وأوراق أقل قيمة أو نباتات مجاورة غير محفزة . بسبب أن النباتات لا تستطيع تغيير كثافة الترايكومات على الأوراق الموجودة فعلاً فإن الزيادة المحفزة في إنتاج الترايكوم تعبر عن نفسها فقط في الأوراق التي تظهر خلال أو بعد الهجوم . الزيادة المحفزة في إنتاج الترايكوم قد تحدث بسرعة نسبياً وتعبر عن نفسها في الأوراق الجديدة خلال أيام أو أسابيع من الهجوم الأول . على نفس المنوال فإن خفض السريع في إنتاج الترايكوم في الأوراق الجديدة عندما يتوقف الضرر يوضح أن الترايكوم هي التي تنتج . هناك دليل إضافي عن

تكاليف إنتاج الترايكوم تأتي من الأمثلة الخاصة بالعلاقة بين كثافة الترايكوم والصفات الدفاعية كما في الأشواك . التلف مع الزيادة المحفزة في إنتاج الترايكوم تؤدي إلى تباين في كثافة الترايكوم في النباتات ذات الأوراق المسنة والقاعدية والتي تكون فيها الترايكوم أقل كثافة عن النباتات الصغيرة ذات الأوراق القمية المحفزة . أظهرت يرققات خنفساء الأوراق *P.Vulgatissima* سلوك غذائي أكثر انتشاراً بين أوراق الصفصاف ذات الكثافة العالية من الترايكومات عند قمة الأشطاء مما يوضح أن الحشرات كانت تبحث عن غذاء أكثر ملائمة بين الفروع . هذا التلف المحفز بين الفروع المتفاوتة في كثافة الترايكوم قد تعكس تحديات في التطور ولكنها قد تمثل ميزة كذلك حيث أن التلف للأوراق القاعدة المسنة يكون أقل ضرراً على لياقة النبات عما هو الحال مع التلف الذي يحدث في الأوراق القمية الصغيرة (Feeny,1976) .

٥- المنظورية Perspectives

العديد من الأنواع النباتية تستجيب لآكلات الأوراق عن طريق إنتاج أوراق بها كثافة وأعداد عالية من الترايكومات . الفائدة الواضحة لهذه الاستجابة تتمثل في خفض أي تلف لاحق عن طريق جعل الأوراق أكثر صعوبة لتغذية الحشرات عليها . هذا ولو أن كمية الإنتاج المحفز للترايكوم قد تختلف تبعاً لظروف المعيشة وأن زيادة كثافة الترايكوم قد تؤثر على المفترسات وأشباه الطفيليات سالبياً وهذا يقلل من تأثير تلف الأوراق . بالإضافة إلى ذلك فإن إنتاج الترايكوم قد يؤثر كذلك على تحمل الجفاف وغيره من الاجهادات غير الحيوية . تأثيرات الإنتاج المحفز للترايكوم على التداخلات مع آكلات العشب يجب ألا تفحص بشكل منعزل ولكن يجب أن تؤخذ في الاعتبار من منظور التأثيرات على التداخلات ثلاثية التغذية والدرجة التي عندها تتفاوت تكاليف اللياقة والفوائد مع الظروف اللا حيوية في العشائر الطبيعية . كذلك مطلوب مزيد من المعلومات عن الأساس الوراثي والهورموني للإنتاج المحفز للترايكوم . هذه المعلومات ذات أهمية في تطوير طرق مكافحة مستدامة للآفات باستخدام الاستجابات النباتية المحفزة كوسيلة لمنع التلف الذي تحدثه الحشرات في النظم الزراعية .

References

- Agrawal AA (1999) Induced responses to herbivory in wild radish : effects on several herbivores and plant fitness . Ecology 80 : 1713 – 1723
- Agrawal AA (2000) Specificity of induced resistance in wild radish : causes and consequences for two specialist and two generalist caterpillars . Oikos 89: 493 – 500

- Barnes BV , Han FQ (1993) Phenotypic variation of Chinese aspens and their relationships to similar taxa in Europe and North America . Can J Botany 71 : 799 – 815
- Choinski JS Wise RR (1999) Leaf growth and development in relation to gas exchange in *Quercus marilandica* Muenchhj . J Plant physiol 154 : 302 – 309
- Cipollini D, Purrington CB , Bergelson J (2003) Costs of induced responses in plants , Basic Appl Ecol 4 : 79 – 85
- Dalin P, Bjorkman C , Eklund K (2004) Leaf beetle grazing does not induce willow trichome defence in the coppicing willow *Salix viminalis* . Agric for Entomol 6 : 105 – 109
- Ehrlinger J (1984) Ecology and physiology of leaf pubescence in North American desert plants , In : Rodriguez E, Healey PL , Mehta I (eds) Biology and chemistroy of plant trichomes . Plenum press , New York , pp 113 – 132
- Farrar RR , Kennedy G (1991) Inhibition of *Telenomus sphingis* an egg parasitoid of *Manduca* spp by trichome 2 tridecanone – based host plant resistance in tomato . Entomol Exp Appl 60 : 157 – 166
- Feeny pp (1976) Plant apparency and chemical defense . In Wallace JM , Mansell RL , (eds) Biochemical interaction between between plants and insects , Plenum press , New York , pp 1 – 40
- Fordyce JA, Agrawal AA (2001) The role of plant trichomes and caterpillar group size on growth and defence of the pipevine swallowtail *Battus philenor* . J Anim Ecol 70 : 997 – 1005
- Gaffney T, Frierich L, Vernooij B, Negrotto D, Nye G, Ukness S, Ward E, Kessman H, Ryals J (1993) Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance , Science 261 : 754 – 756
- Gange AC (1995) Aphid performance in an alder (*Alnus*) hybrid Ecology 76 : 207 – 2083
- Handley R, Ekbom B, Agren J (2005) Variation in trichome density and resistance against a specialist insect herbivore in natural populations of *Arabidopsis thaliana* , Ecol Entomol 30 : 284 – 292
- Hare JD (1992) Effects of plant variation on herbivore – natural enemy interactions . In ; Fritz RS , Simms EL (eds) Plant resistance to herbivores and pathogens ; ecology , evolution and genetics . University of Chicago press , Chicago , pp 278 – 298

- Jeffree CE (1986) The cuticle , epicuticular waxes and trichomes of plants , with reference to their structure , function and evolution . In : Juniper B, Southwood SR (eds) Insects and the plant surface . Arnold , London , pp 23 – 64
- Karban R, Baldwin IT (1997) Induced responses to herbivory . The University of Chicago press , Chicago , p 319
- Karkkainen K, Agren J (2002) Genetic basis of trichome production in *Arabidopsis* Jyrata , *Hereditas* 136 : 219 – 226
- Larkin JC , Young N, Prigge M, Marks MD (1996) the control of trichome spacing and number in *Arabidopsis* , *Development* 122 : 997 – 1005
- Levin DA (1973) The role of trichomes in plant defence , *Q Rev Biol* 48 : 3 – 15
- Marks MD (1997) Molecular genetic analysis of trichome development in *Arabidopsis* . *Annu Rev plant physiol plant Mol Biol* 48 : 137 – 163
- Mauricio R (1998) Costs of resistance to natural enemies in field populations of the annual plant *Arabidopsis thaliana* , *Am Nat* 151 : 20 – 28
- Nagata T, Todoriki S, Hayashi T, Shibata Y, Mori M, Kanegae H, Kikuchi S (1999) Gamma – radiation induces leaf trichome formation in *Arabidopsis* , *Plant physiol* 120 : 113 – 119
- Nihoul P (1993) Do light – intensity , temperature and photoperiod affect the entrapment of mites on glandular hairs of cultivated tomatoes . *Exp Acarol* 17 : 709 – 718
- Obrycki JJ , Tauber MJ (1984) Natural enemy activity on glandular pubescent potato plants in the greenhouse : an unreliable predictor of effects in the field . *Environ Entomol* 13 : 679 – 683
- Ohashi Y , Oka A (2002) Entopically additive expression of *GLABRA2* alters the frequency and spacing of trichome initiation . *Plant J* 29 : 359 – 369
- Payne CT , Zhang F, Lloyd AM (2000) *GL3* encodes a bHLH protein that regulates trichome development in *Arabidopsis* through interaction with *GL1* and *TTG1* . *Genetics* 156 : 1349 – 1362
- Pollard AJ (1986) Variation in *Cnidoscolus texanus* in relation to herbivory . *Oecologia* 70 : 411 – 413
- Raupp MJ (1985) Effects of leaf toughness on mandibular wear of the beetle , *Plagioderma versicolora* . *Ecol Entomol* 10 : 73 – 79

- Rautio P, Markkola A, Martel J, Tuomi J, Harma E, Kuikka K, Sitonen A, Riesco IL, Roitto M (2002) Developmental plasticity in birch leaves : defoliation causes shift from glandular to nonglandular trichomes . *Oikos* 98 : 437 – 446
- Schiefelbein J (2003) Cell – fate specification in the epidermis : a common patterning mechanism in the root and Shoot . *Curr Opin Plant Biol* 6 : 74 – 78
- Serna L, Martin C (2006) Trichomes : different regulatory networks lead to convergent structures . *Trends plant Sci* 11 : 1360 – 1385
- Sharma HC , Waines JG (1994) Inheritance of leaf pubescence in diploid wheat . *J Hered* 85 : 286 – 288
- Shen B, Sinkevicius KW , Selinger DA , Tarczynski MC (2006) The homeobox gene GLABR2 affects seed oil content in *Arabidopsis* . *Plant Mol Biol* 60 : 377 – 387
- Traw BM (2002) Is induction response negatively correlated with constitutive resistance in black mustard ? *Evolution* 56 : 2116 – 2205
- Van Dam NM , Hare JD , Elle E (1999) Inheritance and distribution of trichome phenotypes in *Datura wrightii* , *J Hered* 90 : 220 – 227
- Wang S, Wang JW, Yu N, CH, Luo B, Gou JY , Wang LJ , Chen XY (2004) Control of plant trichome development by a cotton fiber MYB gene , *plant Cell* 16 : 2323 – 2334
- Werker E (2000) Trichome diversity and development , *Adv Bot Res* 31 : 1 – 35
- Westerberg A, Saura A (1992) The effect of serpentine and the population structure of *Silene dioica* , *Evolution* 46 : 1537 – 1548
- Zvereva EL , Kozlov MV , Niemela P (1998) Effects of leaf pubescence in *Salix borealis* on host – plant choice and feeding behaviour of the leaf beetle , *Melasma lapponica* , *Entomol Exp Appl* 89 : 297 - 303

ثانياً : المقاومة لآكلات العشب عند كيوتيكل النبات

المقاومة ضد آكلات العشب قد تبدأ بشكل كبير عند كيوتيكل النبات وهي منطقة الملامسة الأولى بين الكائنات الحية الغازية والنبات . بسبب الصفات الطبيعية - الميكانيكية والكيميائية فإن الكيوتيكل يقوم بوظائف هامة متعددة في النواحي الفسيولوجية والايكولوجية. المركبات الكيميائية للكيوتيكل أو عليه تستطيع أن تعمل مباشرة كمواد طاردة أو حتى سامة لآكلات الأعشاب . الخصائص الطبيعية - الميكانيكية للكيوتيكل تؤثر على حركية واستقرار الحشرات آكلة النباتات وكذلك تعمل كمضادات ومن ثم تؤثر بشكل مباشر وغير مباشر على خصائص الدفاع التركيبية . لا يعرف إلا القليل عن المقاومة المحفزة بالنظر لكيوتيكل النبات . الدفاع المحفز المباشر قد يعمل خلال إنتاج الشموع أو التخليق الحيوي لنواتج التمثيل الثانوي التي تستقر على كيوتيكل النبات بعد هجوم آكل العشب أو التي تحفز بواسطة مركبات إفرازات قنوات المبيض أو خطوات الأقدام . بالإضافة إلى ذلك فإن الخصائص الخاصة للكيوتيكل تؤثر على امتصاص المركبات التي تنشأ من أنواع آكلات العشب والتي تثبط مباشرة الأنواع ذاتها أو تؤثر على سلوك البحث للمضادات . يمكن أن يحدث ويعال الدفاع غير المباشر المحفز بواسطة التشابه بين بروفييل مركب الكيوتيكل بين النباتات وآكلات العشب التي تؤثر على الاستساغة بواسطة المفترسات . في النهاية فإن خصائص الرؤية يمكن أن تتغير بسبب آكل العشب وتؤثر على سلوك إيجاد العائل للمفترسات وأشباه الطفيليات . استقرار وسلوك الكيميائيات الزراعية التي تستخدم لزيادة مقاومة المحصول تحدد بشكل عالى بواسطة خصائص الكيوتيكل المتفاوتة . في هذا المقام سنحاول استعراض النواحي المختلفة عن دور كيوتيكل النبات في إحداث المقاومة النباتية ضد آكلات النباتات كما سنتناول أهم الدراسات المستقبلية واجبة الإجراء في هذا المجال .

١ - مقدمة

كيوتيكل النبات يعزل جميع أنسجة النبات فوق سطح الأرض من البيئة وتكون حاجز هام للحماية ضد فقد الماء بواسطة النسخ وكذلك تحمي ضد الأضرار الحيوية من الخارج . مع أي كائن يقترب من النبات فإن هذا السطح النباتي الخارجي ومن ثم يبنى منطقة التلامس الأولى . قبل أن تحدث آكلات العشب الضرر على الأنسجة النباتية فإن الكيوتيكل يثبط الارتباط والحركة والتغذية أو وضع البيض بكفاءة عالية . لذلك فإنه يمكن بوجه عام منع الحشرات (دون تكيف) عن ملامسة نواتج التمثيل الأولية والثانوية المتنوعة وأن هذا التلف يحفز من الأنشطة الإنزيمية ومن ثم تحدث استجابات دفاعية محفزة في النباتات .

كيوتيكل النبات وصف جيداً بواسطة الصفات الطبيعية - الكيميائية وكذلك المورفولوجية . الكيوتيكل يكون على صورة فلم شفاف مستمر من الليبيدات البوليمرية والشموع الذائبة التي تغطي جميع الأنسجة الأولية الهوائية للنباتات الراقية والتي تتداخل

فقط مع الثغور التنفسية . يتكون الكيوتيكل من ثلاثة أجزاء رئيسية والتي تترسب على معظم المادة الخلوية الخارجية للبشرة كما أن طبقة الكيوتيكل تكون الأساس التي تغرس الكيوتيكل بشكل مناسب والذي يغطي بواسطة الشموع الخلوية السطحية . الكيوتين من البولي استر الحيوى يتكون من W هيدروكسى وهيدروكسى ايبوكسى للأحماض الدهنية مما يكون شبكة معضدة كثيفة تركيبية معضدة . الشموع الجليدية تكون مخلوط معقد من الأحماض الدهنية طويلة السلاسل ومشتقاتها وإضافياً مركبات حلقيه مختلفة مثل بنتا حلقيه للتراى تربينويدز . التركيب الكيميائى الخاص يؤدى إلى تركيب خاص متناهى فى الدقة والذي يختلف بشكل كبير بين الأنواع . لقد قام الباحث (Barthlott et al., 1998) بتقسيم ٢٣ نوع من الشمع والتي تختلف فى السمك وفى وجود وشكل البروزات من بين صفات أخرى .

C. Muller

Department of Chemical Ecology , University of Bielefeld , D- 33615
Bielefeld Germany .

e-mail : caroline.mueller@uni-bielefeld.de

الصفات الطبيعية – الكيميائية للكيوتيكل تؤثر على صفات السطح النباتى مثل اللون والقوام ووجود الكيميائيات النباتية Phyto chemicals (المتطايرة وغير المتطايرة) الهامة فى تحديد قبول العائل النباتى بواسطة الحشرات آكلة النباتات (Powell et al. 1999) . بوجه عام فإن الكيوتيكل يكون حاجز تركيبى مقاوم ضد آكلات العشب التى تفتقر إلى التكيف على سطح نباتى خاص . هذا ولو أن دورها الأساسى فى التداخلات بين النبات والحشرة مازال تحت حد الفهم والتمثيل فى الدراسات العلمية المرجعية . لقد ركزت دراسات عديدة وكثيرة على دور المركبات الثانوية النباتية لقبول أو رفض الحشرات والتي فى الغالب لا توجد على السطح الخارجى ولكن فى الأنسجة الداخلية للنبات فقط . الدراسات على تأثيرات المقاومة لكيوتيكل النبات اشتقت أساساً من البحوث على آفات المحاصيل . المقارنات بين قبول الطرز النباتية أو الأصناف ذات المستويات المختلفة من الشمع الذى يغطيها تساعد فى تحقيق دور معايير المقاومة التركيبية للنباتات . بالإضافة إلى ذلك فإن الدفاع التركيبى غير المباشر يمكن أن يغرس عند كيوتيكل النبات حيث أن الكيوتيكل لا يحدد خصائص للحشرات آكلة النباتات فقط ولكن عمل ذلك للمفترسات وأشباه الطفيليات خاصة بواسطة التأثير على خصائص مقدرتها على الحركة (Eigenbrodx , 2004) المعلومات المتوفرة عن دور كبير كيوتيكل النبات فى المقاومة المحفزة من جهة أخرى قليلة جداً مما يفتح المجال لدراسات مستقبلية فى هذا الخصوص .

فى هذا المقام سوف نبدأ بوصف الصفات الطبيعية - الكيميائية لكيوتيكل النبات وهذا الوصف ضرورى لشرح الملامح التى تقرر دور الكيوتيكل فى التداخلات مع آكلات النباتات . سوف نركز على خصائص المقاومة التركيبية للنبات ضد آكلات العشب والتى قسمت إلى المقاومة المباشرة وغير المباشرة والأخيرة تعمل بواسطة التأثير على كفاءة المفترسات أو أشباه الطفيليات لآكلات العشب . الميكانيكيات والفاعلية تبنى على الصفات الطبيعية و / أو الكيميائية للكيوتيكل . سوف تشير إلى قليل من الأمثلة التى وجد فيها أن كيوتيكل النبات يشترك فى المقاومة المحفزة سواء بطريق مباشر أو غير مباشر . حيث أن الكيميائية الزراعية تحتاج لاقتحام نسيج النبات خلال الكيوتيكل ومن ثم قد تغير سطح النبات بشكل واضح فإن تأثير معاملات وقاية النبات على التداخلات بين النبات والحشرة سوف تناقش .

٢ - خصائص الكيوتيكل Characteristics of Cuticle

٢-١ - الصفات الطبيعية - الكيميائية

كيوتيكل النبات يكون حاجز خارجى كاره للماء Hydrophobic فى جميع الأجزاء فوق الأرض للنباتات الأرضية . سمك الكيوتيكل يختلف من ٠,٠١ وحتى ٢٠٠ ميكرومتر (awrath , 2006) . الكيوتيكل عبارة عن غشاء ثنائى الطبقات . فى البداية فإن الكيوتيكل يتكون من ليبيدات ذائبة وبوليميرية تخلق خارج الجدار الأولى للخلية . خلال تطور العضو فإن منطقة الجدار الأولى للخلية وأخيراً الجدار الخلوى الثانوى تصبح مغلفة مع الكيوتين مما يكون طبقة الكيوتيكل أسفل الكيوتيكل المناسب والذى يختلف فى السمك . مادة الكيوتين (داخل الكيوتيكل) تتكون فى الأساس من C16 W- hydroxyl وحدات الحامض الدهنى غير المشبع ك١٨ هيدروكسى ايبوكسى (Holoway , 1982) وتحتوى لدرجة أقل على الجليسرول ومركبات الفينول . بالإضافة إلى ذلك توجد سكريات مختلفة فى جدار الخلية فى طبقة الكيوتيكل . الشموع الكيتينية تمثل بكتريا مخلوط معقد من الايدروكربونات الاليفاتية طويلة السلسلة مع مركبات حلقة . الأقسام الكبرى لشموع الكيوتيكل هى ن - الكانات (ك١٧ - ك٣٥) وأجزاء صغيرة من مرادفات أو مشتقات سلاسل متجانسة من الأيز و مرادفات الأيزو Anteiso ، كحولات أولية (ك٢٢ - ك٣٢) ، أحماض دهنية (ك١٢ - ك٣٢) ، الدهيدات (ك٢٢ - ك٣٦) ، كحولات ثانوية (ك٢١ - ك٣٣) ، بيتا داي كيتون (ك٢٧ - ك٣٥) واسترات ن - الكيل (ك٣٦ - ك٧٢) . بالإضافة إلى ذلك يمكن أن توجد تراكيب تريبنويدز مختلفة معظمها من بنى حلقة تراكيب تريبنويدز . الشموع داخل الكيوتيكل فى أساس الكيوتيكل يكون مكونات مرتبطة جداً بينما شموع الكيوتيكل السطحى تترسب كفيلم أو تكون بلورات . شموع الكيوتيكل الداخلى والسطحى يمكن أن تؤخذ منهما عينات منفصلة وقد أتضح أن لهما تركيبات نوعية وكمية متميزة من مركبات الشموع . بعد إزالة أو كشط الشموع يحدث

تجديد ثابت في العادة . بينما تظهر أفلام الشمع Ubiquitous فإن طبقات الشمع السميكة تكون نادرة . البلورات تختلف من واحد وحتى عشرات الميكرومترات في الحجم وشكلها يتحدد بواسطة التركيب النوعي والكمي لمركبات الشمع . يمكن إيجاد أشباه البلورات والصفائح والانيبات وشمع الثغور والأبر والخيوط وغيرها مما يحدد التكوين الدقيق لسطح النبات .

البروز الدقيق Microrelief يؤثر على عدة خصائص لسطح النبات مثل القابلية للبلل . بينما الأسطح الملساء تعاني من نقص بلورات الشمع ومن ثم تكون أكثر أو أقل بلل فإن الأسطح الخشنة تقدم طرد دائم للماء . الخشونة قد تتسبب بواسطة التراكيب الدقيقة المختلفة مثل بلورات الشمع وثنيات الكيوتيكل وكذلك بواسطة الترايكمات . السطح الخشن يساعد في الحفاظ على الكيوتيكل جاف ونظيف حيث أن الالتصاق الميكانيكي للجسيمات الصغيرة يتلف وجسيمات الماء ينساب بعيداً عن السطح أخذاً الجسيمات معها . في الدراسات المرجعية عن العلاقة بين النبات والحشرة فإن البروزات الدقيقة المختلفة في العادة تكون مبسطة حيث تستخدم المصطلحات شمعية ولا مع صقيل أملس Glossy فقط . النباتات الملساء تملك في العادة تعقيدات أقل من البروزات الدقيقة وكميات أقل من ليبيدات الكيوتيكل السطحي بالمقارنة بالطرز الشمعية الفينولوجية العادية . في العادة فإن النباتات الملساء تسمح بالارتباط السهل للحشرات عما هو الحال مع الأسطح العادية أو شديدة الشمعية ولكن هذه الخصائص تختلف كذلك اعتماداً على النظام الخاص للنبات والحشرة .

بالإضافة إلى ذلك فإن البروز الدقيق لكيوتيكل النبات يؤثر بشكل كبير على الخصائص الضوئية أو صفات الرؤية . من أحد النواحي فإن الإشعاع يمتص على سطح النبات ومن جهة أخرى فإن الفوتونات يعاد توجيهها عند مرور أو انتقال المراحل مع وسائل الانكسار المختلفة مسبباً انكسار واضح . الامتصاص الإلكتروني للإشعاع يعتمد على وجود مركبات مستقيمة أو حلقة تتضمن روابط زوجية عديدة مثل الفينولات ، أحماض فينوكسي سيناك ، فلافونويدز عديمة اللون أو أنثوسيانين . الدور الأولى لهذه المركبات يتمثل في الحماية ضد التلف الذي يتسبب عن الأشعة فوق البنفسجية ولكن حدوثها النوعي والكمي في الكيوتيكل يحدد كذلك سلوكها الضوئي . الانكسار الواضح للإشعاع يعتمد على زاوية سقوط الإشعاع وزاوية الرؤية للفاحص كما في الحشرات التي تقترب من المصدر . الأسطح العليا للأوراق الملساء تحقق قيم انكسار في مجال الطيف فوق البنفسجي A - (٣١٥ - ٤٠٠ نانوميتر) بين ٤ - ١٠% بينما أسطح الأوراق المغطاة بمظهر أخضر مزرّق تعكس الإشعاع حتى ٢٥% . في العديد من النباتات العفنة ذات الشموع الدقيقة على الكيوتيكل السطحي تعتبر محدثة لانكسار الأشعة فوق البنفسجية حتى ٨٠% والإشعاع المرئي (٤٠٠ - ٧٠٠ نانوميتر) حتى ٧٠% ومن ثم تستطيع الوصول للأسطح العليا للأوراق . كذلك فإن الترايكمات يمكن أن تؤثر على انكسار

الإشعاع بدرجات عالية متفاوتة . دمج الامتصاص وخصائص انكسار الأطوار الموجبة الخاصة يؤثر في النهاية على مظهر التلوين في الكيوتيكل والذي يمكن أن يستخدم كإشارة لإيجاد الآفات آكلة النباتات للعائل النباتي خاصة مع الحشرات .

٢-٢- الخصائص الكيميائية الإضافية

بعد مركبات الشمع التقليدية أو بالدمج معها فإن نواتج التمثيل النباتية الأخرى الذي يكون وجودها هاماً في التداخلات بين النبات والحشرة والتي تم تعريفها في الكيوتيكل فيما يزيد من العقود الزمنية الأخيرة . الأحماض الدهنية الشمعية يمكن أسترتها مع الفينيل بروبا لويدز (كحول السيناميل) والداي تربينات (الفينول) والبنزيل وكحول الفينيل اثيل أو الكيل بنزوات . السلسلة الطويلة جداً من استرات فينيل بروبيل وفينيل بيوتيك وجدت في أشواك كيوتيكل نبات تاكسس باكاتا (عائلة Taxaceae) . التوكوفيرولات تم الكشف عن وجودها في شموع عدد من الأنواع النباتية .

الكربوهيدرات والأحماض الأمينية الذائبة قد تكون ناقصة في سطح الورقة وهي تقدم معلومات حول جودة النبات كمصدر للغذاء المتاح للحشرات . هذا ولسو أن نقص الكربوهيدرات في السطح ذات حجم محدود حيث أن الكربوهيدرات الكبيرة تكون غير قادرة على المرور من الكيوتيكل . المركبات التي تكون في الترايكومات قد ترتشح أو تتحرر على سطح النبات عندما تتضج حوصلة الكيوتيكل في الترايكومات . لقد أشارت البحوث إلى أن الداي تربينويدز والسيدكيوترينات وكذلك الفلافونويدز وغيرها من المركبات الفينولية توجد على سطح العائلات النباتية الراقية المتنوعة استقلالا عن الترايكومات . في نباتات السرخس فإن الفلافونويدز تكون طبقات سمكة من الفارينوز على أوراق السرخسيات .

لقد وجد أن نواتج التمثيل الثانوية المختلفة ذات الأهمية أو كيميائيات معلوماتية في التداخلات بين النبات والحشرة توجد في مستخلصات سطح الورقة مثل الكالويدز بيروليسيدين في نباتات العائلة النجمية والجلوكوسينولات في العائلة الجنازية وكذلك الفيتوستيرولات . لقد حدث جدال كبير عند مناقشة هذه النتائج خاصة عندما تكون نواتج التمثيل غير متطايرة أو قطبية و / أو مشحونة . مستخلصات السطح جهزت مع مذيبات عضوية واستخدمت في العديد من هذه الدراسات لعزل مركبات الكيوتيكل ودائماً تحجب خطر المركبات التي تتسبب من أنسجة النبات ولا تنشأ في الأصل من الكيوتيكل . لم يجد الباحث Soldeat وآخرون (١٩٩٦) الكالويدز بيروليسيدين في أسطح نباتات Sanecio (العائلة النجمية) والكالويدز الوحيد الذي تأكد وجوده في مكونات الكيوتيكل مع طرق أكثر تقدماً في فواكه باباير . كذلك فإن وجود الجلوكوسينات على كيوتيكل النبات ليس مؤكداً . من الأفضل تجنب المستخلصات بالمذيبات العضوية وتستبدل بطرق إدمصاصية مختلفة باستخدام الماء المجمد أو الجليسرول وخلات السليلوز أو الصمغ

العربي لإزالة الميكانيكية لشموع الكيوتيكل السطحي من سطح النبات للتحليل الكيميائي للمركبات الموجودة فيها . ترك النباتات في الظلام قبل الاستخلاص بالمذيب تقلل من مخاطر المركبات التي تذوب من داخل الورقة خلال الثغور التنفسية .

الكيميائيات العضوية غير المشحونة المحبة للذوبان في الدهون توجد في الكيوتيكل وتمتص على الأسطح النباتية عندما يعمل الكيوتيكل كمثبت . المركبات المتطايرة تصل للسطح خلال النقل من داخل الورقة خلال الكيوتيكل (اعتماداً على خصائص الجزيء) أو بواسطة الامتصاص من البيئة . هذه المواد المتطايرة تعمل كمواد كيميائية معلوماتية للحشرات (Lembdon et al., 1998) .

٢-٣ - التباين في كيوتيكل النبات

قد يختلف كيوتيكل النبات في التركيب الدقيق والسك والمكونات الكيميائية داخل النبات بسبب العوامل الداخلية والخارجية المختلفة . السطوح البعيدة عن المحاور Abaxial والقريبة Adaxial تختلف بشكل كبير في التركيب الكيميائي والتركيب الدقيق والتي تؤثر بدورها على التغذية وسلوك وضع البيض في آكلات النباتات . العمر ومرحلة التطور والعضو من المحددات الداخلية الهامة لخصائص كيوتيكل الأوراق والثمار . خلال الشيخوخة فإن نظم الانكسار والتوزيع تتغير كذلك مما يؤثر على خصائص الضوء لسطح الورقة ومن ثم تقدم معلومات مرئية عن جودة النبات . الظروف المناخية في بعض أماكن المعيشة مثل الموسم أو الحرارة تعتبران من العوامل الخارجية الهامة التي تؤثر على خصائص الكيوتيكل وكذلك التآكل بواسطة الرياح والمطر أو بعض الغازات . العوامل الداخلية والخارجية قد تتداخل وكمثال وجود الزيوت الضرورية معاً مع الحرارة العالية قد تؤدي إلى انصهار صفيحات الشمع . التغيرات في كيوتيكل النبات قد تتسبب كذلك بواسطة الحشرات الزائرة أو بواسطة الممرضات النباتية .

٣ - المقاومة التركيبية Constitutive resistance

٣-١ - الدفاع الطبيعي - الميكانيكي المباشر

بسبب المورفولوجي الخاص لشموع سطح الكيوتيكل السطحي فإن كيوتيكل النبات يكون مقاومة تركيبية كحاجز ضد العديد من الحشرات الزائرة . حماية الأزهار من الزوار غير المرغوبين وصفت مبكراً بواسطة الباحث (Kerner 1879) وتتحقق بواسطة وسائل مضادة للكسوة Antirobbing التي تغطي السويقات . أوراق نباتات Ilex aquifolium ملساء بحيث أن العديد من الحشرات لا تستطيع مسكها أو التشبث بها . ارتباط وحركة بيض الحشرات والرسخ على التوالي يمكن أن تثبط بقوة اعتماداً على كمية وتركيب شموع الكيوتيكل السطحي . حركة وتغذية اليرقات الجديدة على وجه الخصوص تتأثر بواسطة التركيب الخاص للكيوتيكل . التعقيد الأقل للتركيب الدقيق للكيوتيكل السطحي للأسطح

المعتدلة تؤدي إلى خفض بقاء يرقات حشرة بلوتيللا زيلوسيتلا بالمقارنة مع البقاء على ذات الطرز الجينية الشمعية بداية التغذية وسرعة المشي لهذه اليرقات تقل على الأسطح المصقولة بالمقارنة بالطرز الجينية الشمعية . الطرز الجينية للسورجم ذات الطبقة الشمعية غير البللورية الناعمة وبلورات الشمع الخفيفة أكثر مقاومة لذبابة ساق السورجم *Atherigona soccata* من رتبة ثنائية الأجنحة عن الطرز الجينية الأخرى . لذلك فإن الأسطح المصقولة تقدم عامل مقاومة هام ضد آكلات الأوراق . ميكانيكيات المقاومة الأخرى قد تتضمن تأثيرات *Pleiotr* لصفة الصقل على الخصائص النباتية الإضافية مثل الإجهاد المائي . بشمول أكثر فإن الأنواع النباتية ذات الأسطح المصقولة والتوهج الشمعي المنخفض تكون في الغالب أكثر مقاومة للآفات الحشرية عما هو الحال مع الأنواع أو الأصناف ذات الأسطح الشمعية ولو أن المقاومة درست في الأساس ضد الديدان الحديثة أو الحشرات الصغيرة مثل المن أو التربس . المقدرة المتزايدة لهذه الحشرات على المشي على الأسطح الشمعية قد تشترك كجزء من عملية التخصصية للنبات العائل .

من جهة أخرى فإن العديد من الحشرات تجابه متاعب أو صعوبات كى تلتصق بشكل مناسب على الأسطح الشمعية مثل الخنافس البرغوثية على الطرز الجينية الشمعية من الكرنب هذا يؤدي إلى خفض التغذية على هذه النباتات والشموع تمنع كذلك استقرار أو التصاق خنفساء أوراق الخردل والتي تلتصق أفضل على أسطح الأوراق المصقولة . الأوراق تستطيع تغيير تركيبها الدقيق عندما تتضج حيث تتحول من ترتيب أكثر تنوع الشموع الكيوتيكل السطحي إلى النوع المصقول كما في أنواع الكافور المختلفة . أوراق الكافور الصغيرة أكثر مقاومة للهجوم بواسطة الخنفساء السلحفية وكذلك لوضع البيض والاستقرار بواسطة حشرة البسليد بينما تكون أكثر حساسية لفراشة الصمغ الخريفى . الأسطح العادية أو الشمعية للأوراق والثمار تستطيع استقبال بيض أكثر أو أقل عن الطرز الجينية المصقولة والأخيرة تؤدي إلى زيادة المقاومة للآفات . المظاهر المرئية المختلفة للطرز الجينية المصقولة قد تساهم في القبول بواسطة الحشرات التي تستخدم لون الورقة للتمييز بين النباتات العوائل .

الإزالة الميكانيكية للشموع النباتية على الكيوتيكل السطحي في الغالب تؤدي إلى حساسية عالية لآكلات الأوراق كما في حالة العديد من حشرات بسليدي وخننافس كريسوميليد والفراشات . خلاص السليلوز في أوراق الشوفان المخططة تخترق مبكراً بواسطة حشرات المنّ عما هو الحال مع الأوراق السليمة . على العكس فإن آكلات الأوراق وحيدة العائل قد تحتاج طبقات كيوتيكل سطحي سليمة لاكتشاف العائل . وفرة طبقة الشمع العادية أو القليلة لابد وأن يكون تأثير في النهاية على تنوع مفصليات الأرجل.

٣-٢ - الدفاع الكيميائي المباشر

التركيب الكيميائي لليبيدات الكيوتيكل قد يسبب مقاومة ضد العديد من آكلات النباتات الحشرية من خلال إدراك الإحساس بواسطة تراكيب حسية عالية التطور متبوعة بسلوك التجنب أو الابتعاد . النشاط المضاد للسم Antixenotic لمستخلصات الهكسان والكلوروفورم لسطح بعض النجيليات أعلى عن الأنواع الأخرى ضد ذباب الهيشيان . استخدام شموع الكيوتيكل السطحي للطرز الوراثية المقاومة من Rhodoendron على الطرز الوراثية الحساسة بسبب خفض فى التغذية ووضع البيض لحشرة Stephanitis pyrioides . الغذاء Meric diet يحتوى على مستخلصات ليبيد للكيوتيكل خفض نمو حشرة Spodoptero frugiperda من عائلة حرشفية الأجنحة . أصناف نبات Medicago sativa التى تحتوى أكثر من ٥٠% استرات شمعية أكثر مقاومة للمن ثيروافيس ماكولاتا . التأثيرات الطاردة لشموع أسطح بادرات السورجم ضد الجراد الرحال ترجع إلى المركبات بارا - هيدروكسى بنزالدهيد ، ن - الكان وفصلات الاستر . إضافة n-alkane-1-ols والكحولات الخاصة ذات ذرات الكربون C24 , C25 لمكونات شمع الكربن المترسبة على شريحة زجاجية قللت من فترة العفن وزادت من وقت تحول الأطوار الحديثة من حشرة P.xylostella. مشتقات استر الحمض الدهنى 3-0 (كربون ١٢ - ١٨) للأحماض التراى تربينيك خماسية الحلقة ، حمض يورسوليك وحمض أوليانوليك جنباً إلى جنب مع الأحماض الأصلية وجدت محدثة لأنشطة فعالة كمانعات للتغذية ضد دودة ورق القطن . التراى تربينول الفا وبيتا أميرين يثبط تغذية الجراد الرحال ويقلل من سلوك القبول لحشرة P.xylostella . أصناف نبات Rubus idaeus من العائلة الوردية ذات المستويات العالية من استرات سيكلوآرتينيل ، استرات أميريك والمركبات الأخرى التى توجد فى شموع الكيوتيكل أكثر مقاومة لحشرة المن A.idaei . السسكوترينينات التى تقع فى الترايكومات لنبات ليكوبرسىكون هيرسوتوم سامة لليرقات الحديثة من حشرة خنفساء L.decaemlineata . الحشرات الكاملة من خنفساء كلورادو البطاطس تدمر بعض أنواع السولانوم البرى عن طريق سقوطها على الأرض بعد دقائق قليلة من ملامسة سطح النبات . ولو أن هذا السلوك يحفز بواسطة الترايكومات فإن المكونات غير المتطايرة لمستخلصات سطح الورقة عرفت على أنها مانعات للالتهام ضد الخنفساء ولو أن هذه المستخلصات قد تحتوى على مركبات أخرى غير شموع الكيوتيكل .

المركبات السامة أو الثانوية الطاردة قد تتركز لمستويات أعلى فى السطوح الملساء عما هو الحال مع السطوح الشمعية ومن ثم تزيد من مقاومة النبات . من جهة أخرى فإن شموع الكيوتيكل السطحي قد تشمل مركبات ثانوية التى تعمل كمنشطات للتغذية أو وضع البيض ومن ثم تزيد من خصائص المقاومة النباتية .

٣-٣- الدفاع التركيبى غير المباشر Constitutive

الدفاع التركيبى غير المباشر للنبات ضد الحشرات آكلات العشب يمكن أن تتحقق عن طريق الأضرار بقدرات الحركة والالتصاق لكل من المفترسات وأشباه الطفيليات على الكيوتيكل . الاختلافات فى الشكل الظاهرى الدقيق وكيمياء ورقة النبات يؤدى إلى حدوث كفاءات افتراضية مختلفة لآكلات اللحوم . كفاءة المفترسات زادت مرات عديدة على الطرز الوراثةى الملساء بالمقارنة بالأنواع الشمعية . على وجه الخصوص فإن يرقات أبى العيد والخنافس تسقط فى الغالب من على النباتات كما أن المن الذى يصيب المجموع الخضرى يكون أقل كفاءة على النباتات التى يوجد على الكيوتيكل السطحى لها سحابة من الشمع . لذلك فإن الطرز الفينولوجية الملساء تحسن من كفاءة بعض المفترسات مما يؤدى إلى حدوث مقاومة بشكل غير مباشر ضد آكلات العشب . انتخاب وتربية الطرز الفينولوجية استخدمت بشكل خاص للسيطرة على آفات الكرنب .

لقد لوحظت نفس التأثيرات مع أشباه الطفيليات . بينما دبابير *Diaeratiella rapae* من رتبة غشائية الأجنحة تسرح ببطء أكثر وتطير فى رحلة الزفاف بتكرارية عالية وتسقط من على أوراق أصناف القرنبيط ذات طبقات الشمع الكثيفة ولقد تحسنت كفاءة السرح للمن على الكرنب بدرجة كبير عندما أزيلت طبقات شمع الكيوتيكل السطحى . دبابير *Aphidius ervi* تمضى وقت نشاط أكثر فى السرح على نباتات البسلة ذات الشمع القليل وهذا قد يساهم فى تحقيق معدل تطفل عالى على من البسلة *A. pisum* . هذا ولو أن المفترسات وأشباه الطفيليات يبدو أنها تفضل النباتات ذات الشمع القليل على الأوراق الشمعية حيث أنها تظهر معدلات نجاح عالية للافتراس والتطفل على هذه النباتات بسبب الالتصاق الأفضل كثيراً على الأوراق الملساء .

على العكس فإن العديد من أنواع المفترسات تستطيع السرحان فعلياً بكفاءة أكثر على الأسطح الشمعية . القليل من أنواع السيرفيدى أظهرت أفضلية وضع البيض على النباتات ذات الشمع الكثيف على الكيوتيكل السطحى وبذلك يزيد من مقاومة النباتات ضد آكلات العشب . فى بعض أنواع المفترسات تكون الأطوار التطورية المختلفة ذات مقدرة على تغيير قدرتها بما يتمشى مع تركيب سطح النبات . كذلك أتضح أن أشباه الطفيليات غيرت من قدرتها على المشى والسرح على كيوتيكل الأسطح الملساء فى مقابل الشمعية . التركيبات الإضافية على السطح مثل الترايكومات تملك عروق فى الأوراق أو سيقان ذات أقطار صغيرة أو زوائد قد تساعد الحشرات آكلة اللحوم فى إيجاد مسكة على النبات تثبت بها .

فى العلاقة التبادلية بين النمل والنبات تلعب الصفات الطبيعية - الكيميائية دوراً هاماً فى قدرات ارتباط أو استقرار الأنواع الخاصة وغير الخاصة من النمل . الارتباط الدقيق الثابت مع أنواع النمل النشيطة تزيد من مقاومة النبات ضد آكلات العشب التى تسرح

بواسطة النمل . لقد درست الارتباطات بين نبات *Macranga* والنمل في هذه التداخلات بالتفصيل بواسطة Federle , 1997 .

هذا ولو أن الدفاع التركيبي المباشر أتضح أن يتأثر بواسطة الصفات الطبيعية - الميكانيكية للكيوتاكل وكذلك بواسطة وجود بعض المركبات الكيميائية على السطح فإن ميكانيكيات الدفاع التركيبية غير المباشرة ترجع أساساً إلى الصفات الطبيعية - الميكانيكية.

٤- المقاومة المحفزة Induced Resistance

٤-١- الدفاع المحفز المباشر

النباتات تستجيب لعدد من استجابات الدفاع المحفزة لتغذية آكلة العشب . في العديد من أنواع النباتات وجد أن التغيرات في التركيب الأولى مثل نسبة الكربون / للنتروجين C (Ohgwhi, 2005) / N ratio وكذلك التغيرات في تركيزات نواتج التمثيل الثانوية استجابة لآكل العشب تؤدي إلى زيادة أداء النبات . كذلك وجد أن مثبطات البروتينيز تحفز بواسطة الضرر حيث تخفض من مقدرة هضم المادة النباتية لآكلات العشب ومن ثم تزيد من المقاومة النباتية . آكلات العشب نفسها أظهرت مستويات مختلفة من التكيف للتغلب على الاستجابات الدفاعية النباتية والتي يمكن أن تقسم إلى دفاع تركيبى أو محفز . ولو أن معلوماتية كبيرة تراكمت عن الميكانيكيات التي تؤدي إلى تحفيز صفات الدفاع في أنسجة النبات بعد التلف الميكانيكى أو بواسطة أكل النبات فإنه لا يوجد إلا القليل نسبياً عن التأثيرات المحفزة على كيوتاكل النبات .

لقد لوحظت تأثيرات مباشرة على إنتاج الشمع بعد التلف الذى يحدثه المنّ في نباتات الفول . إصابة أوراق السورجم بواسطة حشرة *Sipha flava* أدت إلى خفض الشمع البللوى على الكيوتاكل السطحى بالمقارنة بالأوراق غير المصابة . هذا ولو أن الأوراق المصابة أصبحت أكثر حساسية للمنّ عن الأوراق السليمة .

عند سطح الورقة النباتية يمكن أن تزيد كثافة التراكومات استجابة لآكل العشب . التراكومات المحفزة تستطيع إفراز نواتج تمثيل مختلفة مثل الفلافوفولز أو أى مركبات محبة للدهون أخرى والتي تغير من كيمياء السطح . هذه الاستجابات قد تظهر متأخرة في الأنواع الحية مثل الأشجار : كثافة التراكومات الغدية وتركيزات العديد من المركبات المحبة للدهون على سطح الورقة ازدادت في شجرة التبولا التي تساقطت خلال الصيف السابق . التأثيرات تكون مرئية كذلك في الأفرع الجهازية وتؤثر على أنواع مختلفة من آكلات العشب بدرجات متفاوتة .

معاملة أوراق البقدونس *Apium graveolens* بحمض الجسمونيك أو مقترنات الحمض الأمينى لحامض الجسمونيك تنشط التخليق الحيوى لعدد من الفيورانوكومارينات

والتي تترسب في جزء منها على الأقل على سطح الورقة . ولو أن هذه تعمل كمنشطات لوضع البيض مع بعض المتخصصة فإن لها تأثيرات طاردة وكذلك على آكلات العشب العامة .

الجروح بواسطة الحشرات والكشف عن محفزات الحشرة الناشئة من الإفرازات القمية بواسطة النبات تؤدي إلى انطلاق السيستيمين وغيرها من الببتيدات العديدة التي تنشط جهازياً العديد من جينات الدفاع ومسارات النقل الإشاري تتضمن مسار تأثير حمض الجسمونيكت وحتى مع عدم وجود أي تلف في نسيج النبات فإن النباتات تستطيع تطوير المقاومة عن طريق الاستجابة فور ملامسة الحشرة الزاحفة . خطوات أقدام يرققات الحشرة الزاحفة وغير الجارحة تنشط تخليق ٤- أمينوبيوتيرات والسوبراكسيد خلال وقت قصير والتي قد تعول ميكانيكيات مقاومة محلية سريعة (Bown et al., 2002) . إنتاج السوبراكسيد يؤدي إلى موت موضعي للخلايا قد تلعب دوراً وظيفياً في الإنتاج ضد العدوى بواسطة الممرضات الضارة عند موضع التلف من مسار اليرقات (Hall et al., 2004) . استجابة النبات للحشرات الزاحفة قد تحاكي ما حدث من الشفط بواسطة الإبر الدقيقة مما أدى إلى الاقتراح بتأثيرات طبيعية - ميكانيكية من مخدات اليرقات على سطح النبات.

هذا فإن الوسائد المرتبطة على رسغ الحشرات تنتج إفرازات سائلة مطلوبة للالتصاق الرطب على سطح النبات . ولو أن التركيب الكيميائي لهذه السوائل درس فقط في عدد قليل من الأنواع فإنها تميل إلى الحفر في شموع الكيوتيكل . بللورات الشمع المحفورة وجدت أنها تكون كتلة غير متبلوة على وسائل الالتصاق مما يؤثر على حركة الحشرات . هذه الإفرازات من السوائل وتأثيراتها على شمع الكيوتيكل السطحي تكون منشطات هامة للنبات لتحفيز استجابات المقاومة .

قد يوجد محفز آخر لاستجابات الدفاع المبكرة للنباتات في إفرازات قناة المبيض والتي تتبع خلال التبويض . عندما يكون البيض فقط موجود ملتصق على الكيوتيكل دون ظهور أية أضرار مرئية على الأوراق بواسطة وضع البيض فإنه لا يكون واضحاً كيف أن المحفزات الفعالة دخلت إلى نسيج النبات . لقد أوضح البحاث Muller and Rosenderger (2006) أن إفرازات التبويض يمكن أن تمتص في كيوتيكل نبات هذه الأنواع (مثل حشرة *Lilioceris Lili*) من غمدية الأجنحة وقد تنفذ خلال الثغور التنفسية . هذه الإشارات قد تصل وتدخل الأنسجة النباتية بما يسمح للنبات بالاستجابة لهجوم الحشرات مع تحفيز الاستجابات المباشرة وغير المباشرة للدفاع .

في النهاية فإن امتصاص المركبات المنفردة من آكلات النباتات كل على حدة على الكيوتيكل قد تؤثر على النوع ذاته . لقد تم الكشف عن المكون الرئيسي لإفراز يرققات خنفساء الأوراق *P. Cochlicariae* وهو *iridoid (epi) - chrysomelidial* في

مستخلصات سطح الأوراق التي تغذت عليها اليرقات . الإفراز له تأثير طارد على الحشرات الكاملة لنفس النوع . الفورمونات الطاردة لوضع البيض ذكرت مع عدد من الأنواع التابعة لرتب مختلفة (Anderson , 2002) إناث ذباب تيفويتيد يعلم الثمرة بهذه الفورمونات بعد التبويض حيث أن الثمرة تستطيع تعضيد عدد محدود من اليرقات فإن الإناث الأخرى سوف تتجنب الثمار المعلمة كعوائل ملائمة لنسلها . ثبات الفورمون يختلف من ساعات قليلة وحتى أيام عديدة وتعتمد على طبيعة الفورمون والخصائص الطبيعية - الكيميائية لسطح الكيوتيكل .

٤-٢- الدفاع المحفز غير المباشر

ليبيدات الكيوتيكل تقوم بوظائف هامة في التداخلات عديدة التغذية حيث أن مكوناتها الكبرى قد تكون متشابهة جداً من الناحية الكيميائية بين كيوتيكل النباتات وأكلات النباتات ومفترساتها . مكونات ليبيد الكيوتيكل ليرقات *Manuca sexta* تختلف قليلاً اعتماداً على تركيب السطح لنباتات عوائلها الخاصة . هذا التفاوت المرتبط بالغذاء يؤثر على الاستساغة بواسطة النمل المفترس ومن ثم على ملامح المقاومة النباتية بشكل غير مباشر . النشاط المهاجر أو الرحال *Melanopus sanguinipes* تغرس ن - الكانات الخاصة بكيوتيكل النبات في جدار جسمها والذي يستخدم في تمييز العائل بواسطة بعض المفترسات وأشباه الطفيليات . هذا ولو أن هذا النوع من المحاكاة يؤدي إلى حماية كاملة : يرقات *Mechanitis polymnia* من حرشفية الأجنحة تدافع عن نفسها ضد النمل المفترس *C. crassus* عن طريق التشابه بين ليبيدات الكيوتيكل الخاصة بها وتلك الموجودة في النباتات العوائل من العائلة الصليبية . على الأنواع النباتية الأخرى فإن اليرقات لا تستقبل الترموية الكيميائي وتعودت على معدلات افتراس عالية . أيدروكربونات الكيوتيكل النباتية للثمار وأغطية بذور التفاح تم الكشف عنها في اليرقات والحشرات الكاملة للفراشة العجورية *Cydia pomonella* من حرشفية الأجنحة ولاحقاً تم معرفة وجود تماثل بين الفراشات الكاملة وشبيه الطفيل أسكوجاستركوادرى دنيئاتا من رتبة غشائية الأجنحة . حتى مع شبيه الطفيل الفائق وهو بيريلامبوس فولفيكورنيس كان واحد من ليبيدات الكيوتيكل المسمى بنتاكوسين كان متماثلاً مع عائله . هذه العلاقات تمثل تضمين هام لبيولوجية أفراد المستويات الغذائية المختلفة وذلك لقبول العائل من ملائمته . بشكل غير مباشر فإنها قد تؤثر مرة أخرى على خصائص المقاومة النباتية .

تغذية أكل النبات صانع الأنفاق في الأوراق أتضح أنه يؤدي إلى زيادة كميات ترائى تربين اسكوالين على سطح أوراق التفاح والتي تعول موضع العائل لشبيه الطفيل . تحفيز إنتاج الشمع بعد إحداث المنّ للنقوب لوحظت في نبات بيتا فلجارييس وقد يستخدم في تحديد موضع العائل بواسطة أشباه الطفيليات .

تطائر المركبات التي تحفز بواسطة التغذية أو وضع البيض والتي تجذب أفراد المستوى الثالث من التغذية يتأثر بالتأكد بواسطة لبييدات الكيوتيكل السطحي على سطح النبات والذي بدوره يؤثر بشكل غير مباشر على خصائص المقاومة النباتية . امتصاص المركبات العضوية المتطايرة في الشمع ومسارات النقل خلال الكيوتيكل تحدد بشكل كبير بواسطة حب المركبات للذوبان في الدهون بواسطة ضغط البخار المشبع في الغلاف الجوي أعلى الكيوتيكل وبواسطة الخصائص الطبيعية الكيميائية الخاصة لكيوتيكل النبات . الدراسات الخاصة بجذب أشباه الطفيليات بواسطة المواد المتطايرة المحفزة بأكلات العشب يكون من الأهمية فهم حركات النقل ومعرفة تركيزات المركبات الفاتحة على سطح النبات وعلى بعد منه .

الإصابة بأكلات الأعشاب تستطيع أن تؤثر على مظهر الرؤية لسطح النبات . المفترسات ذات الإدراك اللوني الجيد سوف تتفاعل مع التغيرات الطفيلية وتفترس أكثر وبكفاءة . كمثال فإن عصافير شجرة الصفصاف تظهر استجابة للتغيرات في طيف الأشعة البنفسجية والتي تنتج من تحفيز الفلافوفويدز في السطح بسبب التلف الذي تحدثه فراشة النشارة . تغذية المغذيات الداخلية Endophytic تؤدي إلى الجفاف وفقد اللون مما يؤثر على الإشارات اللونية وغير اللونية أساساً بواسطة التغيرات في التباين بالنسبة لأشباه الطفيليات التي تبحث عن العوائل من العذارى . كذلك فإنه مع العاكسات المستقطبة التي تحدد بواسطة الانعكاس لشموع الكيوتيكل السطحي وتفرق جسيمات السطح قد تتغير بواسطة الحشرات صانعات الأنفاق وتؤثر على إيجاد العائل بواسطة أكلات العشب .

٥ - حماية المحصول Crop protection

طبيعة كيوتيكل النبات تؤثر بشكل كبير على ترسيب والسلوك المتتابع للمبيدات ومنظمات النمو والمغذيات على المجموع الخضرى وغيرها من الكيمائيات المستخدمة للمزروعات . بالنسبة للحماية الجهازية للمحصول يتم رش العديد من الكيمائيات الزراعية على الأوراق والتي عليها أن تنفذ أولاً من كيوتيكل النبات حيث يعمل السطوح الشمعية فيلم والشموع المفروشة في الكيوتيكل كحواجز هامة . غير الالكتروليات العضوية تنتشر طبيعياً داخل وعبر الكيوتيكل مع حركة متباينة اعتماداً على نوع النبات والحالة الوراثية وحجم وشكل المذاب ودرجة الحرارة ووجود المحفزات . المواد المحفزة يحفز سائلية شموع الكيوتيكل بواسطة العمل كمواد بلاستيكية ومن ثم تحفز النفاذية المتتابعة من المواد المحبة للدهون غير الالكترولينية . معرفة أهمية دور المركبات التي تستخدم ككيمائيات زراعية وكذلك كيمائيات تحفز الانتقال خلال الكيوتيكل وثقت من خلال إدراكات النباتات . الطبيعة الخاصة للكيوتيكل تحدد كذلك ثبات الكيمائيات الزراعية المختلفة على سطح النبات .

لا يعرف إلا القليل عن التغيرات فى الصفات المورفولوجية والخصائص الطبيعية - الكيميائية للكيوتيكل بعد المعاملة بالمبيدات الحشرية والعشبية والتي تعمل على الحشرات آكلة النباتات . لقد تم التوصل إلى أن الكيوتيكل يلعب دوراً هاماً فى تمييز العائل وقبول العائل وكذلك القابلية لتثبيت الأرجل والبيض وكذلك التأثير الواضح والكبير على التداخلات بين النبات والحشرة كان متوقفاً بواسطة تغيير ملامح السطح النباتى خلال استخدام الكيمياء الزراعية . المعاملة بمبيد الحشائش ضد أنواع *Brassica spp* بمركب إ - اثيل داى بروبيل ثيوكاربامات أدى إلى خفض شموع الكيوتيكل السطحى . النباتات المعاملة تعود مرة أخرى أكثر قبولاً لوضع البيض بواسطة حشرة *P.xylostella* . بقاء اليرقات الحديثة انخفض بشكل كبير على هذه النباتات . هذا بينما المعاملة بالمبيد الحشرى لم تقتل أكل النباتات فقط ولكنها قد تؤثر سلباً على الحشرات النافعة مثل المفترسات وأشباه الطفيليات . عندما استخدم مبيد الدلتامثرين اتضح أنه ينتشر بسرعة فى كيوتيكل شلجم الزيت . شبيه الطفيل *Diaeretiella ragae* من غشائية الأجنحة تأثر قليلاً من مخلفات هذا البيروثويدز ومن ثم كان ذات محدودية فى خفض تعداد من الخوخ .

خلاصة القول أن كيوتيكل النبات الذى يحقق المقاومة النباتية يجب أن يكون له خصائص مختلفة . للدفاع المباشر الفعال يجب أن يكون للكيوتيكل سطح ذات تركيب دقيق بحيث لا تستطيع آكلات النباتات المشى عليه كما لا يلتصق عليه البيض كما لا ينشط . التغذية أو وضع البيض وخاصة المواد المغذية . يجب أن يكون مغطى بالشموع الكيوتيكل ولا يوجد على السطح الخارجى . بالنسبة للدفاع غير المباشر فإن التركيب الدقيق يجب أن يمكن آكلات اللحوم بالصيد الفعال كما أن امتصاص المواد الجاذبة والمنشطات للمفترسات وأشباه الطفيليات يجب أن يكون ملائماً كما أن المظهر المرئى للنبات يجب أن تغدر بأكلات النباتات وتجعلهم فى متناول الأعداء . حيث أن الأنواع المختلفة من آكلات العشب وآكلات اللحوم لها تكيف مختلف لخصائص معينة من الكيوتيكل فإن هذا الكيوتيكل الملائم لا يكون متوفراً أبداً .

References

- Agrawal AA (1998) Induced responses to herbivory and increased plant performance , Science 279 : 1201 – 1202
- Baker EA (1974) The influence of environment on leaf wax development in *Brassica oleraceae* var , *gemmifera* , New Phytol 73 : 955 – 966
- Baldini E, Facini O, Nerozzi F, Rossi F, Rotondi A (1997) Leaf characteristics and optical properties of different woody species , Trees – Struct Funct 12 : 73 – 81

- Bargel H , Barthlott W, Koch K, Schreiber L, Neinhuis C (2004) plant cuticles : multifunctional interfaces between plant and environment . In : Hemsley AR , Poole I (eds) The evolution of plant physiology . Elsevier Academic Press , London , pp 171 – 194
- Barnes JD , Cardoso – Vilhena (1996) Interactions between electromagnetic radiation and the plant cuticle . In : Kerstiens G (ed) Plant cuticles : an integrated functional approach . BIOS Scientific , Oxford , pp 157 – 174
- Barthlott W, Neinhuis C (1997) Purity of the sacred lotus , or escape from contamination in biological surfaces . *planta* 202 : 1 – 8
- Caldwell MM (1968) Solar ultraviolet radiation as an ecological factor for alpine plants . *Ecol Monogr* 38 : 243 – 268
- Carter CD , Gianfagna TJ , Sacalis JN (1989) Sesquiterpenes in glandular trichomes of a wild tomato species and toxicity to the Colorado potato beetle , *J Agric Food Chem* 37 : 1425 – 1428
- Cervantes DE , Eigenbrode SD , Ding HJ , Bosque – perez NA (2002) Oviposition responses by Hessian fly , *Mayetiola destructor* , to wheats varying in surface waxes . *J Chem Ecol* 28 : 193 – 210
- Chang GC , Neufeld J , Durr D, Duetting PS , Eigenbrode SD (2004a) Waxy bloom in peas influences the performance and behavior of *Aphidius ervi* , a parasitoid of the pea aphid . *Entomol Exp Appl* 110 : 257 – 265
- Chappell M, Robacker C (2006) Leaf wax extracts of four deciduous azalea genotypes affect azalea lace bug (*Stephanitis pyrioides* Scott) survival rates and behavior . *J Am Soc Hort Sci* 131 : 225 – 230
- Cockell CS , Knowland J (1999) Ultraviolet radiation screening compounds . *Biol Rev* 74 : 311 – 345
- Dicke M, Takabayashi J, Posthumus MA , Schulte C, Krips OE (1998) Plant – phytoseiid interaction mediated by herbivore – induced plant volatiles : variation in production of cues and in responses of predatory mites . *Rev Exp Appl Aca* 22 : 311 – 333
- Dutton A, Mattiacci L, Amado R, Dorn S (2002) A novel function of the triterpene squalene in a tritrophic system . *J Chem Ecol* 28 : 103 – 116
- Edwards PB (1982) Do waxes of juvenile Eucalyptus leaves provide protection from grazing insects ? *Aust J Ecol* 7 : 347 – 352
- Ehleringer JR , Bjorkman O (1978) Pubescence and leaf spectral characteristics in a desert shrub , *Encelia farinosa* , *Oecologia* 36 : 151 – 162

- Eigenbrode SD (2004) The effects of plant epicuticular waxy blooms on attachment and effectiveness of predatory insects . *Arthr Struct Devel* 33 : 91 – 102
- Eigenbrode SD , Kabalo NN (1999) Effects of Brassica oleracea waxblooms on predation and attachment by *Hippodamia convergens* . *Entomol Exp Appl* 92 : 125 – 130
- Fatouros NE , Bukovinszky Kiss G, Kalkers LA , Gamborena RS , Dicke M, Hilker M (2005) Oviposition – induced plant cues : do they arrest *Trichogramma* wasps during host location ? *Entomol Exp Appl* 115 : 207 – 215
- Federle W , Bruening T (2005) Ecology and biomechanics of slippery wax barriers and wax running in *Macaranga* ant mutualisms . In : Harrel A , Speck T , Rowe N (eds) *Ecology and biomechanics : a mechanical approach to the ecology of animals and plants* . CRC Press , Boca Raton , pp 163 – 185
- Gorb SN (1998) The design of the fly adhesive pad : distal tenent setae are adapted to the delivery of an adhesive secretion . *Proc Roy Soc Lond Ser B – Biol Sci* 265 – 747 – 752
- Gouret E , Rohr R, Chamel A (1993) Ultrastructure and chemical composition of some isolated plant cuticles in relation to their permeability to the herbicide , diuron , *New Phytol* 124 : 423 – 431
- Grant L, Daughtry CST , Vanderbilt VC (1993) Polarized and specular reflectance variation with leaf surface – features , *Physiol plant* 88 : 1 – 9
- Grevstad FS , Klepetka BW (1992) The influence of plant architecture on the foraging efficiencies of a suite of ladybird beetles feeding on aphids / *Oecologia* 92 : 399 – 404
- Hagley EAC , Bronskill JF , Ford EJ (1980) Effect of the physical nature of leaf and fruit surfaces on oviposition by the codling moth , *Cydia pomonella* (*Lepidoptera* , *Tortricidae*) . *Can Entomol* 112 : 503 – 510
- Hall DE , Mac Gregor KB , Nijse J, Bown AW (2004) Footsteps from insect larvae damage leaf surfaces and initiate rapid responses , *Eur J Plant Pathol* 110 : 441 – 447
- Harborne JB , Williams CA (2000) Advances in flavonoid research since (1992) . *Phytochemistry* 55 : 481 – 504
- Henrique A, Portugal A, Trigo JR (2005) Similarity of cuticular lipids between a caterpillar and its host plant : a way to make prey undetectable for predatory ants ? *J Chem Ecol* 31 : 2551 – 2561

- Hilker M , Kobs C, Varama M, Schrank K (2002) Insect egg deposition induces *pinus sylvestris* to attract egg parasitoids , *J exp Biol* 205 : 455 – 461
- Jeffree CE (1996) Structure and ontogeny of plant cuticles . In : Kerstiens G (ed) *plant cuticles : an integrated functional approach* / BIOS Scientific Publishers , Oxford , pp 33 – 82
- Jeffree CE (2006) The fine structure of the plant cuticle . In : Riederer M , Muller C (eds) *Biology of the plant cuticle* . Blackwell publishing , Oxford , pp 11 – 125
- Jenks MA , Gaston CH , Goodwin MS , Keith JA , Teusink RS , Wood KV (2002) Seasonal variation in cuticular waxes on *Hosta* genotypes differing in leaf surface glaucousness . *Hort Sci* 37 : 673 – 677
- Kareiva P, Sahakian R (1990) Tritrophic effects of a simple architectural mutation in pea plants , *Nature* 345 : 433 – 434
- Kerner A (ed) (1879) *Schutzmittel der Bluthen gegen unberufene Gaste* / Verlag der Wagner schen Universitatss – Buchhandlung , Innsbruck
- Kerstiens G , Schreiber L, Lendzian KJ (2006) Quantification of cuticular permeability in genetically modified plants . *J Exp Bot* 57 : 2547 – 2552
- Kessler A , Baldwin I T (2002) Plant responses to insect herbivory : the emerging molecular analysis , *Annu Rev Plant Biol* 53 : 299 – 328
- Lambdon PW , Hassall M , Mithen R (1998) Feeding preferences of woodpigeons and flea – beetles for oilseed rape and turnip rape . *Ann Appl Biol* 133 : 313 – 328
- Leveau JHJ (2004) Leaf surface sugars , In : Decker M (ed) *Encyclopedia of plant and crop science* Dekker M, New York , pp 642 – 645
- Mallavadhani UV , Mahapatra A, Raja SS, Mnjula C (2003) Antifeedant activity of some pentacyclic triterpene acids and their fatty acid ester analogues . *J Agric Food Chem* 51 : 1953 – 1955
- Markstadter C , Federle W , Jetter R , Riederer M , Holldobler B (2000) Chemical composition of the slippery epicuticular wax blooms on *Macaranga* (Euphorbiaceae) ant – plants . *Chemoecology* 10 : 33 – 40
- Nawrath C (2006) Unravelling the complex network of cuticular structure and function . *Curr Opin plant Biol* 9 : 281 – 287
- Neinhuis C , Koch K, Barthlott W (2001) Movement and regeneration of epicuticular waxes through plant cuticles , *planta* 213 : 427 – 434

- Ohgushi T (2005) Indirect interaction webs ; herbivore – induced effects through trait change in plants / *Annu Rev Syst* 36 : 81 – 105
- Olsson LC , Veit M, Weissenbock G , Borman JF (1998) Differential flavonoid response to enhanced UV – B radiation in *Brassica napus* . *Phytochemistry* 49 : 1021 – 1028
- Pelletier Y , Dutheil J (2006) Behavioural responses of the Colorado potato beetle to trichomes and leaf surface chemicals of *Solanum tarijense* , *Entomol Exp Appl* 120 : 125 – 130
- Reifenrath K , Riederer M , Muller C (2005) Leaf surface wax layers of Brassicaceae lack feeding stimulants for *phaedon cochleariae* . *Entomol Exp Appl* 115 : 41 – 50
- Riedel M, Eichner A, Jetter R (2003) Slippery surfaces of carnivorous plants : composition of epicuticular wax crystals in *Nepenthes alata* Blanco pitchers . *Planta* 218 : 87 – 97
- Schoonhoven LM , van Loon JJAS , Dicke M (2006) *Insect – plant biology* . Oxford University Press , Oxford UK
- Severson RF , Rrendale RF , Chortyk OT , Johnson AW , Jackson DM , Gwynn GR , Chaplin JF , Stephenson MG (1984) Quantitation of the major cuticular components from green leaf of different tobacco types . *J Agric Food Chem* 32 : 566 – 570
- Talley SM , Coley PD , Kursar TA (2002) Antifungal leaf – surface metabolites correlate with fungal abundance in sagebrush populations . *J Chem Ecol* 28 : 2141 – 2168
- Uematsu H , Sakanoshita A (1989) Possible role of cabbage leaf wax bloom in suppressing Diamondback moth *plutella xylostella* (Lepidoptera : Yponomeutidae) oviposition , *Appl Entomol Zool* 24 : 253 – 257
- Van Dam NM , Hadwich K, Baldwin I T (2001) Induced responses in *Nicotiana attenuata* effect behavior and growth of the specialist herbivore *Manduca sexta* . *Oecologia* 122 : 371 – 379
- Walton TJ (1990) Waxes , cutin and suberin . In : Harwood JL , Boyer J (eds) *Lipids , membranes and aspects of photobiology* . Academic Press , London , pp 105 – 158
- Yang G , Isenhour DJ ; Espelie KE (1991) Activity of maize leaf cuticular lipids in resistance to leaf – feeding by the fall armyworm , *Florida Entomol* 74 : 229 – 236
- Zalucki MP , Clarke AR , Malcolm SB (2002) Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera . *Annu Rev Entomol* 47 : 361 - 393

الباب الخامس

تكوين الأدمة من الجروح وقنّيات الراتنج الجرحى وخلايا البرانشيمه
عديدة الفينولات فى الصنوبريات

أولاً : تكوين الأدمة من جراء حدوث الجروح

آكلات النباتات والحشرات القارضة على وجه الخصوص تسبب تلف واضح ومؤثر للنبات . بالإضافة إلى فقد النسيج النباتى فإن هناك اهتمام كبير بغزو المسبب الممرض وفقد الماء عند موقع الهجوم . من إحدى استراتيجيات الدفاع النباتى تكوين الأدمة مع حدوث الجرح عند حواجز منطقة الغزو والتلف لعزلها عن الأنسجة السليمة غير المجروحة . تطور أدمة الجرح بعد تغذية الحشرة لم يفحص بوجه خاص على الإطلاق ولو أن دراسات آكلات الأعشاب وتشفير الجروح أظهرت تداخل مكثف فى مجموعات الجينات المحفزة المسؤولة .

خصائص الحماية بالأدمة ترجع فى الأساس إلى الجدر الفلينية لطبقات الخلايا الخارجية . السوبرين يتكون من أساس البولى استر العطرى والأليفاتى ومادة الشمع المرتبطة مما يقدم حواجز بيوكيميائية وتركيبية ضد الغدوى بالممرض ويساهم فى نفاذية الماء للأدمة . معظم المعلومات المتاحة حالياً عن أدمة الجرح تتأتى من عمليات الاندمال لدرنات البطاطس المجروحة ميكانيكياً .

١- مقدمة

الأعضاء النباتية الهوائية عادة ما تحمى بواسطة الكيوتيكل والشموع التى تفصل البيئة الخارجية والأنسجة الداخلية ومنساعده صيانة الاستقرار الداخلى المتجانس Homeostasis بمجرد حدوث ضرر على السطوح النباتية فإن الأنسجة الداخلية تتعرض للأوساط المحيطة وقد تصبح جافة و / أو مصابة بالمرضات إلا إذا كانت عدم النفاذية ستعاود الاستقرار . النباتات لا تشفى الجروح من مفهوم أن النسيج التالف يعاود التجديد بشكل كامل وبدلاً من ذلك فإن شفاء الجرح تتضمن تحجيم غزو الممرض وفقد السائل .

ولو أن استجابات الجروح قد تختلف بين الأنواع والأعضاء المختلفة فإنها تتبع نظام مشابه . الطبقة الأولى للخلايا السليمة المجاورة للجرح تتحول بواسطة تحاكم المواد المضادة للميكروبات المختلفة والمواد غير المنفذة للماء التى تتضمن اللجنين والسوبرين لتكون طبقة مغلقة (Thomson et al., 1995) .

الأدمة عبارة عن نسيج واقى ذات أصل ثانوى يحل محل البشرة عندما تتلف خصائص الحماية للأدمة ترجع فى الأساس إلى ترسيب الجزيئات الضخمة للسوبرين على جدر طبقة خلاياها الخارجية . تكوين الأدمة ظاهرة شائعة فى سوق وجذور ثنائية الفلقات Gymnosperms التى تزيد فى السمك بواسطة النمو الثانوى وكذلك فى Lenticels وبعد الجرح . فى الواقع فإن تكوين الأدمة وعمليات تكوين السوبرين تعتبر واحدة من الاستجابات العامة لحدوث الجروح بصرف النظر عن طبيعة البوليمر الواقى الطبيعى فى نسيج النبات (Kalattukudy , 2001 , Bloch , 1941) .

فى الغالب فإن جميع أكلات النباتات خاصة الحشرات القارضة تسبب ضرراً وتلفاً مؤثراً عند موقع الهجوم . بالإضافة إلى التلف الفورى والموضعى للنبات يسبب فقد النسيج فإنه يوجد اهتمام كبير بفقد الماء من مكان Perimeter الضرر (Aldea et al., 2005) . من إحدى استراتيجيات دفاع النبات ما يتمثل فى تكوين أدمة الجرح عند حواف منطقة الغزو أو التلف لعزلها من النسيج السليم غير المجروح . أدمة الجرح قد تمنع حدوث غزوات متتالية للآفة . وتمنع حدوث عدوى من الممرض . هذا ولو أن تطور أدمة الجرح بعد تغذية الحشرة لم يدرس بشكل خاص . دراسات العلاقة بين أكل النبات وإشارات الجرح أظهرت تداخل فى المجاميع المعنية من الجينات المحفزة وأن تغذية الحشرة تم محاكاتها باستخدام النباتات التى تم جرحها ميكانيكياً ولكن هذه التجارب قصيرة جداً لى تسمح بتكون الأدمة .

معظم المعلومات الجارية عن أدمة الجروح وتكوين السوبرين اشتقت من عمليات الاستقرار المحفزة بالجروح فى درنات البطاطس . تكوين أدمة الجرح تحفز بواسطة إزالة جلد الدرنه أو عمل أقراص من الدرنه نفسها باستخدام ثاقب الفلين والسماح للنسيج المعرض بالشفاء . هذه الطريقة تمكن من عزل كميات كبيرة من الأدمة السوبرينية التى تصبح عندئذ متاحة للتوصيف التشريحي والكيميائى وكذلك للقياسات المباشرة لنفاذية الماء . بالإضافة إلى المميزات التقنية الموجودة فى استخدام نظام قرص درنة البطاطس فإنه يوجد تطابق بين أدمة الجرح فى البطاطس والأدمة فى النباتات الأخرى . تطور وتشريح النسيج ذات تشابه كبير وقد وجدت المكونات الكيميائية للسوبرين من الأنواع الأخرى فى الأدمة السوبرينية للبطاطس . خصائص الأدمة المحفزة بالجرح فى درنات البطاطس جعلها نموذج جيد لدراسة نسيج الأدمة السوبرينية المحفزة بالجروح فى النباتات .

٢- أدمة البطاطس : الأصل والتشريح

نسيج الأدمة يحل محل البشرة مبكراً فى تطور درنة البطاطس (Reeue وآخرون ، ١٩٦٩) . هذا النوع من الأدمة سواء كان يتكون طبيعياً أو كان أدمة أصلية تشابه أدمة الجرح من حيث أصل النسيج والتركيب والمورفولوجى (Sabba and Lulai , 2002)

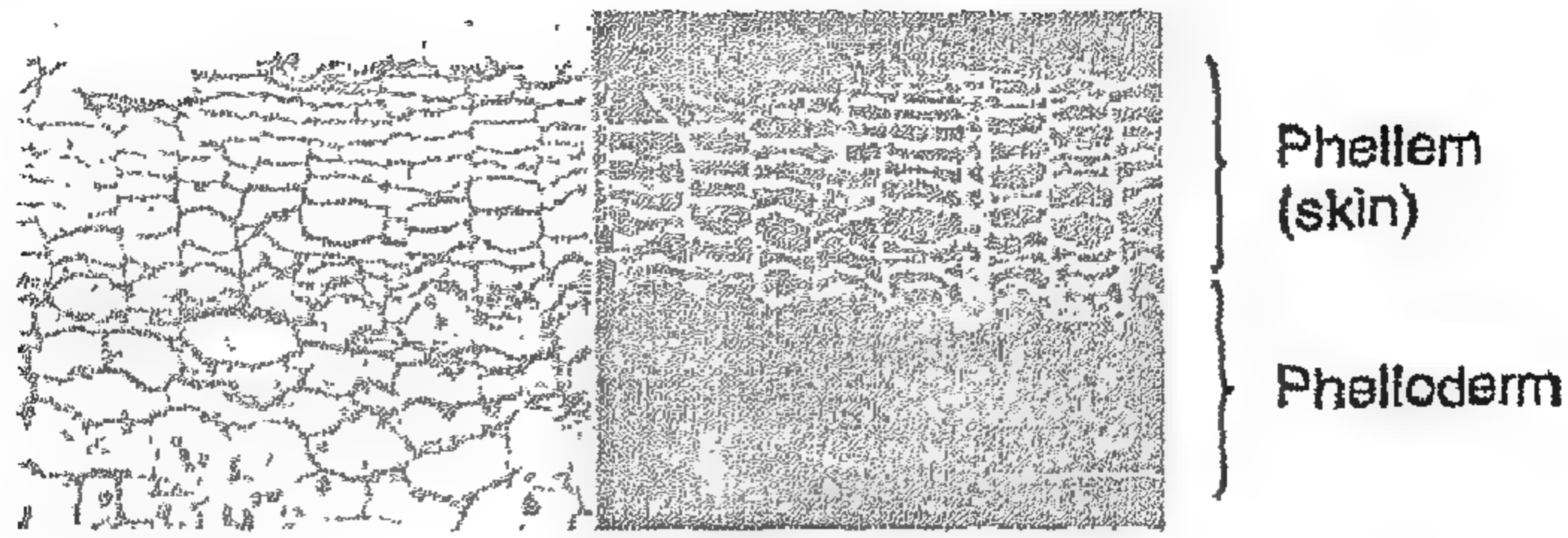
. نوعى الأدمة هاتين يتكونا من مكونات كيميائية متشابهة ولو أنهما يختلفان فى كمياتهما النسبية .

الأدمة الأصلية تبدأ بواسطة انقسام كلا خلايا البشرة وتحت البشرة بداية عند نهاية الساق وأخيراً فى منطقة نهاية البرعم للدرنة . يستمر إضافة أدمة جديدة بواسطة الانقسام الخلوى خلال نضج الدرنة . كفاءة ومقدرة إنتاج أدمة جديدة عند حدوث الجرح تستمر مستقرة بواسطة الأنسجة البرانشيمية فى الدرنة ولكنها تكون فى معظم الأحيان قريبة من الأدمة الأصلية أو الأصلية (Artschwager , 1927) .

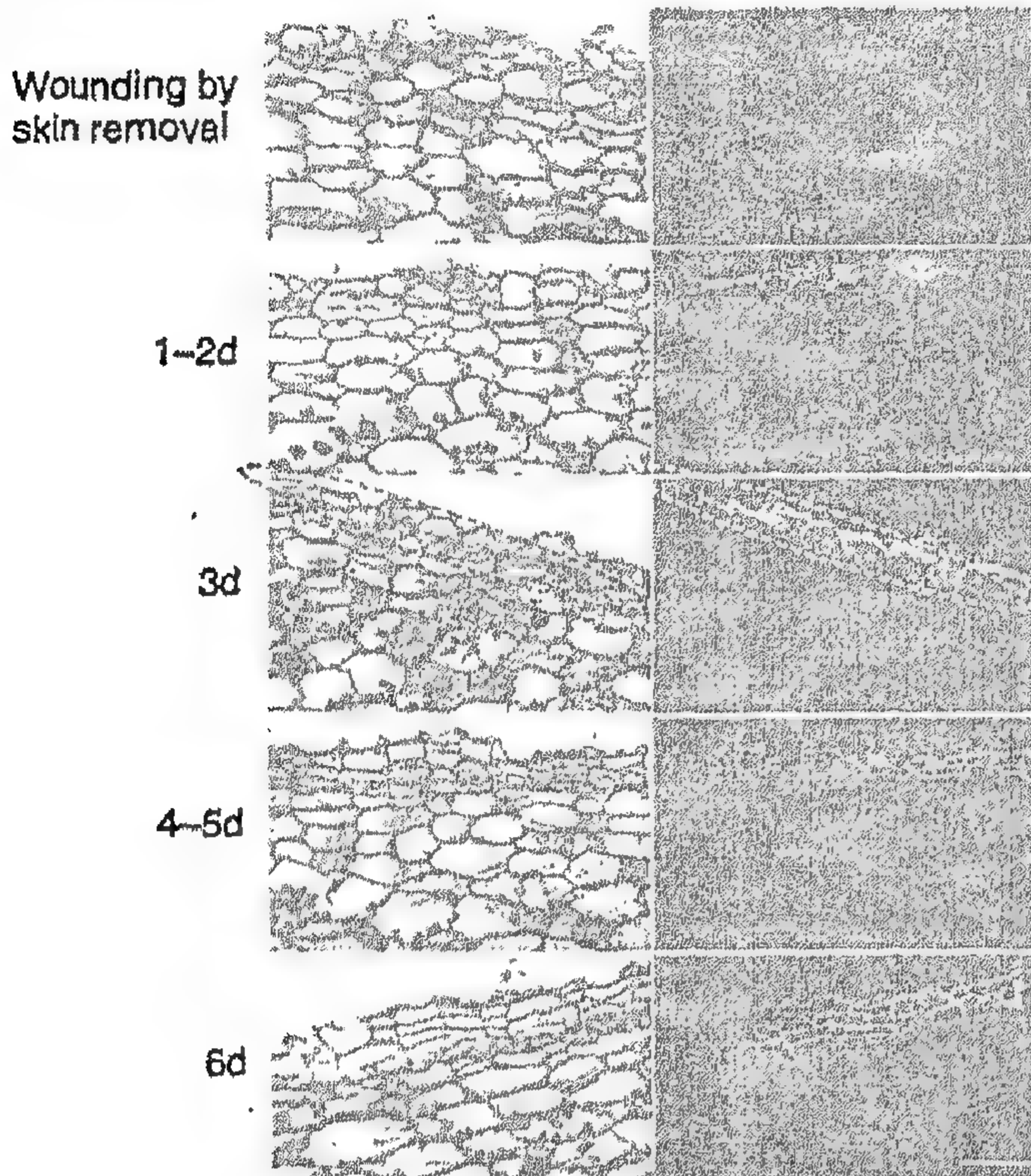
كلا الأدمات الأصلية والناجمة من الجرح تتكون من ثلاثة أنواع من الخلايا : خلايا الفيلين السوبرينية الخارجية المشتقة من الطبقة المرستيمية وحيدة الخلية ، الفيللوجين (كامبيوم الفلين) والتي تقع تحتهم ، الانقسامات الخلوية الداخلية للفيللوجين تضيف لأدمة الفيللين شبيهة البرانشيمية (الشكل ٥-١) . بعد السوبرينية لجدرها فإن خلايا الفلين تموت ومن ثم تخلق الطبقة الواقية الخارجية . الاصطلاح أدمة Periderm وما يشير لمكوناتها اشتق من الكلمات اليونانية ومن بينها Phellem التى تعنى الفلين Cork أو الجين Gen أو لإنتاج To produce أو ديرما Derma أو جلد Skin أو بيرى Peri أو حوالى About (Esau,1965) . فى الدرنات غير المجروحة فإن الفلين السوبرينية يكون جلد البطاطس .

فى كلا الأدمة من الجروح أو الأصلية فإن خلايا الفلين تعرف بواسطة شكلها المستطيل وترتيبها فى خطوط عمودية وبواسطة حقيقة أن جدرها تضىء فلوريسينياً تحت الأشعة فوق البنفسجية (الشكل ٥-١) . هذا النظام العمودى نتيجة لأصلها من الانقسامات Periclinal فى طبقة خلايا الفيللوجين أما الفلوريسينية ترجع إلى وجود بوليمرات عطرية سوبرينية فى جدر الخلايا . فى الأدمة غير الناضجة (فى كلا أدمة الجروح أو الأدمة الأصلية) فإن الفيللوجين النشط فى الانقسام يكون متحركاً وميال للشق بما يسمح بفصل الفلين السوبرين من الأدمة الفلينية Phelloderm وخلايا البرانشيمية . عندما يتوقف نشاط الفيلوجين المرستيمى فإن جدر الخلايا تصبح أسمك وأكثر مقاومة للشق . البكتينات غير الأسترية قد تشترك فى التصاق الخلية - الخلية من خلال بكتات الكالسيوم التى تتكون وقد تم الكشف عنها فى الأدمة الأصلية الناضجة . هذا ولو أن نضج أدمة الجرح لا ترتبط مع الزيادة فى البكتين غير المؤسّر فى جدر الفيللوجين . لذلك فإنه كى يتحقق أقصى حماية فى منطقة الجرح فإنه يجب أن تتطور أدمة ناضجة بعد الجرح وفيها يتوقف نشاط الفيللوجين ويحدث التصاق لطبقة الفلين السوبرينية بشدة مع الفيللودرم الموجودة تحتها .

A Native periderm



B Wound periderm



شكل (١-٥) : الأدمة الأصلية وتلك الناتجة من الجروح فى البطاطس . القطاعات العرضية للبطاطس تم صبغ السطح الدرنه بالصبغاني O / Fast Green وأظهرت بواسطة ميكروسكوبات الضوء (الافريز الأيسر) والأشعة UV (الافريز الأيمن) لفحص مورفولوجى النسيج والفلوروسنس الذاتى للخلايا السوبرينية على التوالى . (A) الأدمة الأصلية للدرنه الناضجة مع خلايا الفلين السوبرينية (الجلد) والفلودرم شبيه البرانشيما ، (B) تطور ادمة الجرح بعد إزالة الجلد . السوبرينية المحفزة بالجروح لخلايا الدرنه المعرضة (١ - ٣ يوم) . فى اليوم الثالث الفيلوجين المرستيمى الذى

يظهر كمنطقة متعددة الأنوية تطورت تحت هذه الخلايا (الدوائر) انقسامات الفيلوجين ينتج طبقات الفلين السوبرينية (٤ - ٦ يوم) .

٣- التركيب الكيميائي للأدمة

٣-١- سوبرين Suberin

٣-١-١- الحدوث

الأدمة تحقق خصائصها الوقائية للجدر السوبرينية لخلايا الفلين . لقد أدى تعريف الجدر السوبرينية في العديد من الأعضاء النباتية إلى الاستنتاج أن سوبرينية جدر الخلية ما هي إلا ميكانيكية شائعة حيث تستخدمها النباتات عندما تحتاجها في جدار الخلية كي تصبح حاجز فعال للانتشار . الأمثلة تشمل البشرة السطحية والتحتية والداخلية في الجذور وفي الأعضاء النباتية الأخرى تحت سطح الأرض مثل الدرناات و Stolons وكذلك سوبرينية خلايا شالازال وغلاف الحزمة وقاعدة الغدد المفرزة حيث يكون مطلوباً تركيبية المواد المغذية أو المواد السامة . من الأمثلة الخاصة الجدر السوبرينية للخلايا المخزنة للفينول وهي جزء من ميكانيكية الدفاع النباتية التركيبية ضد حيوانات الرعي والحشرات التي تتغذى على النباتات . المركبات السامة تبقى محصورة في حالة موازنة أو ثقل مخفض داخل تجاويف الخلية ولكنها في نفس الوقت تحقق وسائل لأكسديتها السريعة ومن ثم يحدث فقد التقسيم كما يحدث من خلال الجروح . المركبات الفينولية هذه قد تستخدم لاحقاً كوحدات بنائية لجزيئات السوبرين الكبيرة كواحدة من وسائل غلق الموقع الفوري للنفاد الخلوي . إذا داوم الإجهاد فإن نفس العمليات تحفز البناء طويل المدى لحامض الاندول أسيتيك (IAA) والاثيلين مما يؤدي إلى حدوث طوفان من الحوادث التي تنتج دفاع بالأدمة على عمق حتى سنتيمترات تحت مكان الحظر الفوري .

بالإضافة إلى التخليق الحيوي المنظم للنمو فإن تخليق السوبرين يحفز وبوليمراته تترسب في جدر الخلايا المجاورة لمواقع الجرح خلال اندمال الجرح . من الأكثر أهمية أن تطور السوبرينية لا يتطور فقط على الدرناات وغيرها من الأعضاء التي تحمي طبيعياً بواسطة السوبرين ولكنها تشمل كذلك ما يحدث على الثمار والأوراق التي تحمي طبيعياً بواسطة الكيوتين (Simons and Chn , 1978) .

٣-١-٢- الوضعية الخلوية Cellular localization

يتكون السوبرين من البولي استرات العطرية والاليفاتية وكذلك مادة الشمع المرتبطة بها وهي تقع بين الجدار الأولي والبلازماليم . نموذج الجزيئات العملاقة للسوبرين أدت إلى الاقتراح بأن المكون العطري يرتبط بكاربوهيدرات جدار الخلية أما المكون الاليفاتي يرتبط بالروابط مع المركبات الفينولية عبر روابط الاستر . الفحص بالميكروسكوب

الالكترونى المساح للجدر السوبرينية أظهرت تركيب ضوئى Lammellar وفيه يحتمل أن تكون شرائح الضوء الأساسى الأليفاتى (Soliday et al., 1979). السوبيرين فى أدمة جرح البطاطس يترسب من طبقة الخلايا القديمة الخارجية نحو الداخل. يحدث الترسيب فى النظام الحلقى داخل كل طبقة خلوية بداية على جدر الخلايا المماسية الخارجية ثم على الجدر المرتبطة القطرية وفى النهاية على الجدر المماسية الداخلية.

تركيب السوبيرين ومكوناته الكيميائية والإنزيمات المشتركة فى تخليقه الحيوى استعرضت بالتفصيل (Bernards, 2002). فى هذا المقام سوف نشير لهذه المعلومات باختصار لتوضيح تعقيد عملية السوبرينية وصعوبات تناول تركيبه وتكوينه التى مازالت حتى وقتنا هذا وصفت جزئياً فقط.

٣-١-٣ - التنقية والتقدير Purification & detection

حيث أن السوبيرين يترسب داخل جدار الخلية ويرتبط بها يصبح من المستحيل عزل سوبيرين نقى من جدار الخلية. فى حالة اندمال أو تعافى أقراص البطاطس فإن نسيج الأدمة يقشر بعيداً عن لحم الدرنة وتزال الكربوهيدات الملتصقة بواسطة المعاملة بخلط من إنزيمات التحلل المائى أو هيدروليزيس مثل السيلوليز والبكتينيز تاركة وراءها مادة غير ذائبة غنية فى الجدر السوبرينية. يمكن عمل تحلل مائى إضافى للسكريات العديدة غير السيلوزية باستخدام حامض ترائى فلورو أسيتيك. الشموع الذائبة المرتبطة بالبوليمر يتم استخلاصها عندئذ بالمذيبات العضوية وتقدر بواسطة الكروماتوجرافى الغازى المزود بمطياف الكتلة GC/MS. المكونات الأليفاتية تحرر من البوليمر بواسطة فقد البلمرة مع التحلل القلوى والأسترة الناقلة بواسطة الميثانول فى وجود BF₃ أو كربونات الصوديوم NaOCH₃ أو التحلل المائى الأيدروجينى مع LiAlH₄ فى تتراهيدروفيوران. الأثير وروابط ك - ك فى البوليمر العطرى تنقسم تأكسدياً مع النيتروبنزين القلوى وأكسيد النحاس CUO أو المعاملة بالثيوجليكولات. المونوميرات السوبرينية المشتقة تعرف بواسطة GC / MS وجهاز HPLC أو الرنين النووى المغناطيسى NMR.

٣-١-٤ - التركيب الكيميائى والتخليق الحيوى

الأساس العطرى لسوبيرين أدمة البطاطس يتكون من هيدروكسى سيناميت ومشتقاتها الأميدية وكذلك المونولجينول. المكونات الأساسية للجزء الأليفاتى a, w - داي أسيز و w - هيدروكسى أسيدز مع كميات صغيرة من الكان - ١ - أولز وأحماض الكانويك. لقد اقترح أن الجلسرين يشترك فى رابطة عبورية بين البولى استرات المقابلة بما يسمح بتكوين شبكة ثلاثية الأبعاد وحديثاً أتضح أن جين الجليسرول - ٣ - فوسفات أسيتال ترانسفيريز 5 يلعب دوراً محدداً فى التخليق الحيوى لجدار الخلية السوبرينية. بالإضافة إلى ذلك فإن أدمة البطاطس تحتوى حتى ما يزيد عن ٢٠% من الليبيدات القابلة

للاستخلاص (شموع) إلى جانب مركبات الشمع ذات السلسلة الخطية الأليفاتية الطويلة تم الكشف عن الكيل فيريولات كمكونات مؤثرة ففى أدمة الجرح وصلت كمياتها لما يزيد عن ٦٠% من المستخلصات الكلية .

من المهم ملاحظة أن أساسيات السوبيرين العطري والأليفاتى تختلف عن اللجنين والكيوتين على التوالى . التمييز الأكبر بين الكيوتين والسوبيرين يتمثل فى أن الأول يحتوى على سلسلة هيدروكسيلية قطبية و / أو أحماض إيبوكسى كمكونات كبرى . اللجنين يتكون من كحولات هيدروكسى سيناميل بوليمرية مثل المونوليغنول .

مسار الفينيل بروبانويد يحفز فى كلا التخليق الحيوى للسوبيرين العطري واللجنين . أنشطة أنزيمات فينيل الانين أمونيا - ليز (PAL) و ٤- كوماريك - COA - ليجيز (4 - CL) وسيناميل كحول ديهيدروجينيز (CAD) تزداد فى كلا عمليات السوبيرينية واللجنة بينما إنزيم سيتامويل - COA أوكسيدو ريدكتاز (CCR) يحفز نشاطه فقط عند بداية عملية اللجنة (Bernards et al., 2000) . نقص تحفيز CCR فى أدمة البطاطس السوبيرينية توضح تكوين قنوات من هيدروكسى سينامول - COA بعيداً عن تكوين مونوليغنول وفى المقابل يتجه التفاعل نحو مشتقات السوبيرين . هيدروكسلة ومثلة أحماض هيدروكسى سيناميك تحدث عند مستوى مشتقات هيدروكسى سينامويل - COA وحصرها فإن إنزيم أوكسى - ميثيل ترانسفيريز السوبيرينى يشفر من الذرة (Held et al., 1993) . تكوين قنوات فينيل بروبانويد الفينولية فى السوبيرين أدى إلى الاقتراح بمشاركة نشاط إنزيم ترى أمين هيدروكسى سينامويل ترانسفيريز (THT) كما أن CDNA الخاص به يشفر من البطاطس . لقد اقترح لاحقاً أن الأساس الفينولى تحدث له بلمرة خلال نشاط البيروكسيديز ويتطلب فوق أكسيد الإيدروجين H_2O_2 والسوبيرينية المرتبطة بالبيروكسيديز الأنيونى ككلون . الصور مشابهة الكاتيونية قد تشترك كذلك ولو أنها لم تكن كلونت بعد .

التفاعلات الخاصة بالسوبيرين الأليفاتى تشمل إطالة الحمض الدهنى (ك ١٨ ، ك ٢٤ إلى ك ٣٢) والأكسدة . إنزيم كيتوأسيل - COA - سينسيز يساعد الخطوة الأولى فى الإطالة ١٨ : صفر عبر مالونيل - COA وهى تكون من جذور الذرة الأولية السوبيرينية . أنشطة إنزيمى ديهيدروجينيسيز التى تعتمد على NADP التى تحفز أكسدة W - هيدروكسى أسيدز و W - أوكسوأسيد إلى أحماضها داىكربوكسيليك المقابلة والتى تعتبر الخطوات الفاتحة فى التخليق الحيوى للسوبيرين الأليفاتى ولو أن CDAA المقابلة لها لم تكون بعد . لقد اقترح أن غرس الفريوليتات فى بوليمرات السوبيرين تكون خلال الاقتران إلى أحماض دهنية الهيدروكسى بواسطة إنزيم هيدروكسى حمض دهنى فيريوليل - COA ترانسفيريز (HHT) .

التحليل الكيميائي المكثف للسوبرين مكن من تعريف المكونات المونوميرية ومحدودة الميرية وعمل نموذج افتراضي للتركيب في جدار الخلية . في هذا المقام سوف نوضح بعض نماذج التخليق الحيوي لمكونات السوبرين وتفاعلات البلمرة والروابط بين الأساس الأليفاتي والعطري وترسية الجزيئات العملاقة من الكربوهيدرات في جدار الخلية الأولى . مازالت هذه الترسية وتنظيم تحفيز السوبرين والتخليق الحيوي في حاجة لمزيد من الإيضاح .

٤ - خواص الحماية لأدمة الجروح

بعد سوبرينية جدر خلاياها فإن خلايا الفلين تموت مما يخلق طبقة واقية تغطي النسيج المعرض قبلًا عند موضع الجرح . جثت الخلايا تملأ بالهواء ومن ثم تقدم العزل الحراري وبذلك تقوم الجثت بمنع غزو الجدر بواسطة الكائنات الدقيقة (ميكانيكياً وكيميائياً) ورواسب الشمع التي تغرس داخل مادة السوبرين بما يمنع جفاف النسيج النباتي المعرض قبلًا (Kolattukudy , 1977) . الميكانيكيات التي يعمل بها السوبرين في تحقيق المقاومة للمرض تم اقتراحها بواسطة هذا الباحث ، ١٩٨٤ حيث يمكن أن يعمل كحاجز لانتشار إنزيمات المرض أو التوكسينات في الأنسجة الحية كحاجز تكويني أو تركيبى ضد دخول المسبب المرضي أو كحاجز بيوكيميائي للميكروبات بسبب النسبة العالية للمواد الفينولية المغروسة في بوليمر السوبرين .

في درنات البطاطس فإن التخليق والتكامل في جدر الخلية لأמידات هيدروكسي سيناميك أسيد للترايامين والأوكتابين يكون استجابة مبكرة جداً للجروح (Negre et al., 1993) . هذه الأميدات تحقق نشاط مضاد للفطريات وقد اتفق على أنها تساهم في تكوين الحاجز الفينولي الأولى ضد غزو المرض ويكون قوالب البناء مع الفينولات الأخرى لأساس السوبرين عديد العطرية والذي يعمل حينئذ كحاجز دائم مما يحدث إحلال للجلد . أساس السوبرين العطري تقوى جدر الخلية لاحقاً ضد إنزيمات التحلل المائي الفطرية وقد أتضح أن سمك طبقة الخلايا السوبرينية ترتبط بشكل كبير مع المقاومة للمرضات . أدوار الأساس الفينولي للسوبرين تم تعصيده بواسطة التجارب مع مثبطات تخليق فينولات السوبرين والتي تمنع تطور المقاومة للمرض . لقد اقترح بعد ذلك أن الأساس الفينولي للسوبرين تقدم مقاومة للبكتريا (أروينيا كاروتوفورا) وليس العدوى بالفطر (فيوزاريوم - سامبوكينم) بينما ترسيب الأساس الأليفاتي للسوبرين يكون مسئولاً عن الحالة الأخيرة .

في نسيج درنة البطاطس المندمل من الجرح وجد أن ترسيب المكونات الأليفاتية للسوبرين ترتبط مع تطور المقاومة عند سطح النسيج لانتشار بخار الماء . هذا ولو أن الشموع التي ترتبط ببوليمر السوبرين أقترح أنها تلعب الدور المحدد في نفاذية الأدمة للماء . المكون الخاص لتخليق الشمع يثبط تطور المقاومة لانتشار بخار الماء على سطح الأدمة مما يوضح أن الشموع ترتبط ببوليمر السوبرين عما هو الحال مع البوليمر نفسه

مما يكون حاجز الانتشار الأكبر الذى يتكون خلال اندمال الجرح . هذا الدور للشموع المرتبطة بالسوبرين تكون مرادفة لإسهام مادة الشمع فى الكيوتكل الهوائى ونفاذية الماء تقدر بشكل كامل بواسطة الشموع . استخلاص الشمع من الأدمة يؤدي إلى زيادة فى نفاذية الماء (Vogt et al., 1983) .

من المثير للاهتمام أن نفاذية الماء لأدمة الجرح تكون فى المتوسط ١٠٠ مرة أعلى من الأدمة الطبيعية . لقد قام الباحث Schreiber وآخرون (٢٠٠٥) بالربط بين تكوين وكمية الأساس الأليفاتى لأدمة درنة البطاطس مع كفاءته كحاجز لانتقال الماء . الاختلافات فى التركيب الكيميائى للسوبرين وكميته بين الأدمة الأصلية السليمة والمجروحة قليلة بالنسبة للاختلافات الكبيرة فى نفاذية الماء مما أدى إلى الاقتراح بأن الترتيب الجزيئى والوضعية الدقيقة لترسيب السوبرين والشموع المرتبطة به داخل جدار الخلية تساهم فى كفاءته كحاجز لانتقال الماء .

٥- إقامة أو تشييد حاجز الأدمة

٥-١- نظام توقيت تطور الأدمة

بعد حدوث الجرح فإن إقامة الحاجز الواقى قبل غزو الممرض واستقراره تعتبر أساسية لتحقيق مقاومة العائل . لذلك فإن معدل تطور الأدمة وسوبرينية خلاياها الفلينية الخارجية من المحددات الهامة فى حدوث شفاء للنبات بعد الجرح .

الحوادث الخلوية أو السيتولوجية قد تؤدي إلى بداية تكوين الفلين وتطور الأدمة أدت إلى الاقتراح أنها تلى زيادة انتقالية فى حامض اندول اسيتيك آسيد IAA والليبيدهيدروكسى بيروكسيد وكلاهما يصلان للمستويات القصوى بعد ٢٠ - ٣٠ دقيقة من حدوث الجروح فى درنات البطاطس (Fabbri et al., 2000) . هذا يكون متبوعاً بحدوث نشاط انقسام ميتوزى للخلايا المؤهلة لإنتاج الأدمة بدءاً من ١٢٠ دقيقة بعد حدوث الجرح . انقسام الخلايا يكون مصحوباً بزيادة ذات المرحلتين فى تخليق البروتين بعد ساعتين وحينئذ بعد ١٢ و ٢٤ ساعة بعد حدوث الجروح وكذلك زيادة فى الاكتين المبلمر وحزم الخيوط الدقيقة فى الخلايا عند موقع الجرح بعد ١٢ ساعة من حدوث الجرح .

ترسيب المركبات الأليفاتية والعطرية للسوبرين فى الأدمة النامية وجد انها عملية منفصلة . يتراكم الفينولات العديدة للسوبرين بداية خلال السوبرينية المحفزة بالجروح بينما تتراكم المركبات الأليفاتية للسوبرين أخيراً وتكمل حاجز السوبرين .

نشاط PAL الذى يعتبر مطلب ضرورى للتخليق الحيوى للمونوميرات العطرية للسوبرين وجد يصل لنشاط انتقالى كبير بعد ١٢ ساعة من جرح درنة البطاطس ولو أنه غير مقيد على طبقات الخلايا السوبرينية حيث تم الكشف عنه فى الطبقات العميقة كذلك .

يبدأ ترسيب السوبرين بعد ٢٤ ساعة من عمل شرائح فى درنة البطاطس (Thomas , 1982) . عندما عوملت شرائح درنة البطاطس التى شفيت من الجروح بحامض السيناميك المعلم إشعاعياً ثم حدوث أقصى امتصاص خلال اليومين الأوليين بعد حدوث الجرح ثم انخفضت بعد ذلك . لقد تم الكشف عن أعلى ترسيب لمكونات السوبرين الفينولية على جدار الخلية بين ثلاثة وسبعة أيام من تاريخ اندمال الجرح . لذلك فقد افترض أن النشاط الكلى للبىروكسيدز يتضمن فى بلمرة الأساس العطرى وتثبيته على جدار الخلية يزداد تدريجياً فى الخلايا التى حدث فيها سوبرينية بعد أربعة أيام من حدوث الجرح وتظل عالية بعد ذلك (Borchert , 1978) .

الأساس الفينولى للسوبرين يحقق مواقع أسترية للمكونات الأليفاتية ومن ثم فإن بداية ترسيب المركبات الأليفاتية فى نسيج الأدمة تحدث بمجرد اكتمال ترسيب فينولات السوبرين فى البداية والطبقة الخارجية للفلين . مع استخدام السيكلوهكساميد والاكتينومايسين D أتضح أن تخليق الحمض النووى RNA والبروتين لإنزيم W - هيدروكسى أسيد ديهيدروجينيز وهو الإنزيم المشترك فى تكوين المكونات الأليفاتية للسوبرين والتى تحدث بين ٧٢ ، ٩٦ ساعة من حدوث الجروح . قياس تراكم المكونات الأليفاتية أظهرت زيادة منخفضة حتى خمسة أيام من حدوث الجرح يتبعها زيادة كبيرة حتى اليوم العاشر من السوبرينية . الغرس المؤقت لمركب $[I - ^{14}C] \text{oleic aci}$ و $[I - ^{14}C] \text{acetate}$ فى المكونات الأليفاتية للسوبرين التى تعضد خلال الفترة والجدولة الزمنية (Dean and Kolatdukudy , 1997) .

لذلك فإنه فى البطاطس فإن ترسيب مكونات السوبرين تبدأ بعد يوم وحتى يومان من حدوث الجروح وتكوين النسيج الواقى الكامل بعد عشرة أيام لاحقاً . الجدول الزمنى لتراكم السوبرين حتى تكوين الحاجز الواقى كاملاً يختلف تبعاً للطرز الجينى . لقد وجد هذا التباين كذلك فى النباتات الخشبية حيث يحدث تراكم السوبرين فى جروح قلف الخوخ .

٥-٢- العوامل الفسيولوجية التى تحدد معدل اندمال الجروح

الجدول الزمنى لتطور حاجز الأدمة السوبرين فى نظام أقراص درنات البطاطس الذى وصف فيما قبل تم تحديده تحت ظروف متحكم فيها ولو أن الظروف الفسيولوجية والبيئية تؤثر على كفاءة اندمال الجروح . تأثير الحرارة والرطوبة النسبية على تكوين الأدمة درس باستفاضة من منطلق العمليات الصناعية / الزراعية لعلاج أضرار القشرة فى درنات البطاطس حديثة الحصاد . أظهرت الملاحظات النسيجية التشريحية أو الهستولوجية أن تكوين الأدمة المحفز بالجرح يحدث بسرعة ملحوظة على درجة ٢٥°م بينما يتأخر اندمال الجرح على درجات الحرارة المنخفضة (١٠ - ١٥°م) بينما درجات

الحرارة العالية مثل ٣٥°م تمنع تكوين الأدمة (Morris et al, 1989) . على نفس المنوال فإنه في اندمال جروح قلف شجرة الخوخ فإن إعادة تكوين القلين تأثرت بشدة بواسطة درجات الحرارة وحدثت بسرعة أكبر تحت الظروف المناخية المتوسطة . هذا ولو أن الرطوبة العالية (٩٨%) مع درجة الحرارة الملائمة (٢٥°م) أسرعت تكوين الأدمة المحفزة بالجروح في درنات البطاطس .

تأثير الحرارة على تكوين السوبرين المحفز بالجروح تم تقديرها في نظام أقراص درنات البطاطس بواسطة استكشاف تطور المقاومة لفقد الماء . درجة الحرارة الملائمة لتكوين مونوميرات السوبرين الأليفاتية وتطور المقاومة لتوصيل بخار الماء كانت ٢٦,٤°م بينما تخليق الالكان كان ملائماً على درجة حرارة ١٨,٦°م (Dean , 1989) . درجات الحرارة المنخفضة تقلل من إنتاج مونمير السوبرين . الاختلاف في درجات الحرارة الملائمة لتخليق المكونات الأليفاتية للسوبرين والشمع قد تشتق من الحساسية للحرارة لتفاعلات الحمض الدهني ذات السلسلة الطويلة . الكربون في الالكان ك ٢١ يسود الالكانات التي وجدت على ١٩,٥°م بينما على درجة ٢٩,٤°م وجدت ثلاثة مشتقات ك ٢١ ، ك ٢٣ ، ك ٢٥ بنسبة متساوية (Dean,1989) . اعتماد تطور الأدمة والتخليق الحيوي للسوبرين يعتمد على درجة الحرارة وقد وجد أن التأثير يتباين موسمياً من حيث مقدرة النبات على الشفاء من الضرر .

عمق الجروح يؤثر على معدل اندمال الجرح : جروح الدرنه السطحية تبدأ في الاندمال أسرع من نظيرتها العميقة (Lulai and Orr , 1995) . عمر النسيج المجروح يؤثر كذلك على عملية الاندمال . لقد أوضح الباحث أن تقدم درنات البطاطس في العمر يفقدها القدرة على التئام الجروح خلال التخزين مع مقدرتها لمؤازرة إنتاج السوبراكسيد على سطح الجرح . لقد اقترح أن النشاط العالي لإنزيم سوبر اكسيد ميوتيز (SOD) في الأنسجة الشائخة تحد من تراكم الحمض - أمينو سيكلو بروبان - ١ - كربوكسيليك أسيد (ACC) للثايلين المحفز بالجرح . التيسر القليل لشوارد سوبراكسيد قد تؤثر لاحقاً على معدل نشوء الطبقة الواقية حيث أنها مطلوبة لبلمرة الأساس العطري للسوبرين . بالإضافة إلى ذلك فإن الدرنات الشائخة تحقق مقدرة قليلة لزيادة نشاط PAL استجابة للجروح والتي تحد بدرجة كبيرة من تيسر بادئات السوبرين العطرية ولاحقاً تساهم في الفقد المحفز بالعمر في القدرة على اندمال الجروح ومقاومة مسببات الممرض النباتي .

٥-٣- التضمين الهرموني Hormonal involvement

السوبرينية التي تقاس بواسطة مقاومة سطح النسيج لانتشار بخار الماء تثبط بواسطة تركيزات بالمليمولار من حامض IAA وتثبط بشدة بواسطة تركيزات بالميكرومولار من السيتوكينين ولكنها تنشط بواسطة حمض الأبسيسيك ABA مشاركة ABA في اندمال

الجروح لوحظ بداية عندما تحرر الهورمون في وسط الغسيل خلال يوم واحد من قطع أقراص درنة البطاطس حيث أدت إضافة ABA إلى وسط التحضين لأقراص الدرنة المغسولة إلى انعكاس تثبيط السوبرينية المحفزة بالغسيل . لقد افترض عندئذ أنه خلال المرحلة الأولى من اندمال الجرح يلعب حامض ABA دوراً في توجيه سلسلة من العمليات البيوكيميائية والتي تؤدي إلى تكوين عامل محفز بالسوبرينية المسئول عن تحفيز الإنزيمات المشتركة في التخليق الحيوي للسوبرين . لقد درس تأثير ABA على السوبرينية في مزرعة نسيج درنة البطاطس عن طريق قياس ترسيب مكونات السوبرين . أدت المعاملة بحامض ABA إلى زيادة كلا المكونات البوليميرية العطرية والأليفاتية للسوبرين وكذلك الأيدروكربونات والكحولات الدهنية المميزة للشموع المرتبطة بسوبرين البطاطس وبعض الإنزيمات المشتركة في السوبرينية .

حيث أن الإثيلين من الهورمونات المعروفة جيداً استجابة للجروح (Abeles et al., 1992) فإن دوره في السوبرينية المحفزة بالجروح في درنة البطاطس تم فحصه على امتداد ٩ أيام لاندمال الجرح باستخدام أنواع من مثبطات التخليق الحيوي وفعل الإثيلين . نشوء الإثيلين يتم تنشيطه بواسطة الجروح ويصل لأقصاه بعد ٢ - ٣ أيام من حدوث الجرح وبعدها يبدأ في الانخفاض تدريجياً . ولو أن الهورمون غير مطلوب لتراكم الفينولات العديدة للسوبرين المحفزة بالجرح في منطقة القفل (سوبرينية الخلايا الموجودة على سطح الجرح) خلال اليومين الأولين وحتى الأربعة أيام من اندمال الجرح أو للسوبرينية المتتابة لخلايا الفلين (بين ٤ وحتى ٩ أيام) . ولو أن تأثيرات أحماض ABA , IAA والإثيلين تم فحصها بالنظر لعمليات السوبرينية إلا أن مشاركتها في نشوء الأدمة من جراء حدوث الجروح مثل بدء تكوين الفلين وتنظيم الانقسام الخلوي وتقدير الفلين ومصير الفيلودرم مازالت غير واضحة .

الجدول الزمني لتكوين الأدمة وسوبرينتها قد تختلف في المملكة النباتية وقد تعتمد على العديد من المنشطات الفسيولوجية والبيئية ولو أن معدل ودرجة تراكم السوبرين كانت أكثر أهمية عن العدد الفعلي لخلايا الفلين الجديدة أو سمك طبقات السوبرين الجديدة . هذا يعني أن الأدمة كثيفة السوبرينية تتكون من طبقات خلوية قليلة وقد تكون أكثر فاعلية كحاجز لغزو الممرضات عن الأدمة الأسماك (واحدة من طبقات خلوية أكثر) (Biggs , 1989) والتي تكون أقل سوبرينية .

References

- Abeles F, Morgan P, Saltveit M (1992) Ethylene in plant biology. Academic Press, London
- Agrawal VP, Kolattukudy PE (1977) Biochemistry of suberization. Omega-hydroxyacid oxidation

- Bakker JC (1988) Russeting (cuticle cracking) in glasshouse tomatoes in relation to fruit growth. *J Hort Sci* 63:459-463
- Beckman CH (2000) Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? *Physiol Mol Plant Pathol* 57:101-110
- Cottle W, Kolattukudy PE (1982b) Biosynthesis, deposition, and partial characterization of potato suberin phenolics. *Plant Physiol* 69:393-399
- Dean BB, Kolattukudy PE (1976) Synthesis of suberin during wound-healing in jade leaves, tomato fruit, and bean pods. *Plant physiol* 58:411-416
- Espelie KE, Sadek NZ, Kolattukudy PE (1980) Composition of suberin-associated waxes from the subterranean storage organs of 7 plants-parsnip, carrot, rutabaga, turnip, red beet, sweet potato and potato. *Plant* 148:468-476
- Franceschi VR, Krokene P, Christiansen E, Krekling T (2005) Anatomical and chemical defenses of conifer bark beetles and other pests. *New Phytol* 168:353-375
- Gandini A, Pascoal C, Silvestre AJD (2006) suberin: a promising renewable resource for novel macromolecular materials. *Prog Pol* 31:878-892
- Hawkins S, Boudet A (1996) Wound-induced lignin and suberin deposition in a woody angiosperm (*Eucalyptus gunnii* Hook): histochemistry of early changes in young plants. *Protoplasma* 191:96-104
- Held BM, Wang H, John I, Wurtele ES, Colbert JT (1993) An mRNA putatively coding for an O-methyltransferase accumulates preferentially in maize roots and is located predominantly in the region of the endodermis. *Plant Physiol* 102:1001-1008
- Ichihara Y, Fukuda K, Suzuki K (2000) The effect of periderm formation in the cortex of *Pinus thunbergii* on early invasion by the pinewood nematode. *Forest Pathol* 30:141-148
- Kobayashi M, Nakagawa H, Asaka T, Matoh T (1999) Borate-rhamnogalacturonan II bonding reinforced by Ca^{2+} retains pectic polysaccharides in higher-plant cell walls. *Plant Physiol* 119:199-203
- Lofty S, Negrel J, Javelle F (1994) Formation of w-feruloyloxypalmitic acid by an enzyme from wound-healing potato tuber discs. *Phytochemistry* 35:1419-1424

- Major IT, Constabel CP (2006) Molecular analysis of poplar defense against herbivory: comparison of wound and insect elicitor-induced gene expression. *New Phytol* 172:617-635
- Negrel J, Lotfy S, Javelle F (1995) Modulation of the activity of two hydroxycinnamoyl transferases in wound-healing potato tuber discs in response to pectinase or abscisic acid. *J Plant Physiol* 146:318-322
- O'Donnell PJ, Calvert C, Atzorn R, Wasternack C, Leyser HMO, Bowles DJ (1996) Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. *Science* 274:1914-1917
- Parker CC, Parker ML, Smith AC, Waldron KW (2001) Pectin distribution at the surface of potato parenchyma cells in relation to cell-cell adhesion. *J Agric Food Chem* 49:4367-4371
- Quiroga M, Guerrero C, Botella MA, Barcelo A, Amaga I, Medina MI, Alfonso FJ, De Forchetto SM, Tigier M, Valpnesta V (2000) A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. *Plant Physiol* 122:1119-1127
- Razern FA, Bernards MA (2003) Reactive oxygen species production in association with suberization: evidence for an NADPH-dependent oxidase. *J Exp Bot* 54:935-941
- Sabba RP, Lulai EC (2002) Histological analysis of the maturation of native and wound periderm in potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber. *Ann Bot* 90:1-10
- Simons RK, Chu MC (1978) Periderm morphology of mature Golden Delicious apple with special reference to russetting. *Sci Hort* 8:333-340
- Thomson N, Evert RF, Kelman A (1995) Wound healing in whole potato tubers: a cytochemical, fluorescence, and ultrastructural analysis of cut and bruise wounds. *Can J Bot* 73:1436-1450
- Vogt E, Schonherr J, Schmidt HW (1983) Water permeability of periderm membranes isolated enzymatically from potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *planta* 158:294-301
- Yan B, Stark RE (2000) Biosynthesis, molecular structure, and domain architecture of potato suberin: a ^{13}C NMR study using isotopically labeled precursors. *J Agric Food Chem* 48:3298-3304

Zimmermann HM, Hartman K, Schreiber L, Steudle E (2000) Chemical composition of apoplastic transport barriers in relation to radial hydraulic conductivity of corn roots (*Zea mays* L.). *planta* 210:302-311

ثانياً : قنويات الراتنج الجرحى والخلايا البرانشيمية عديدة الفينولات فى الصنوبريات

Traumatic Resin Ducts and Polyphenolic Parenchyma Cells in Conifers

الصنوبريات تتميز بتكامل الدفاعات التركيبية المتعددة والمحفزة فى تناسق من خلال استراتيجية دفاع متعدد الوسائل . الدفاعات التكوينية أو التركيبية تحدث وتستقر قبل حدوث أى هجوم حيث تمثل تكلفة ثابتة ووظيفة كضمان وتأمين ضد الهجمات المتعذر تجنبها . الدفاعات المحفزة تتسم بالحركة استجابة لأى هجوم ومن ثم تمثل مقاومة متباينة ثم تعاود مرة أخرى عند الحاجة . خلايا البرانشيمية عديدة الفينولية (خلايا PP) المتخصصة فى تخليق وتخزين المركبات الفينولية وهى متوفرة فى لحاء جميع أنواع الصنوبريات . بالإضافة لكونها مكون دفاع تركيبى متميز فإن خلايا PP تشترك كذلك فى مدى عريض من استجابات الدفاع المحفزة بما فيها تنشيط خلايا PP الموجودة وإنتاج خلايا PP جديدة وتكوين أدمة الجرح . وفرة وتفاوت أدوار الدفاع جعلت من خلايا PP النوع الوحيد والأكثر أهمية فى دفاعات الصنوبريات . من وسائل الدفاع الهامة الأخرى قنويات الراتنج الجرحى Traumatic والذي يحفز فى العديد من الصنوبريات بعد مختلف التحديات الحيوية واللا حيوية . قنويات الراتنج الجرحى تتكون بداية فى الخشب حيث تظهر فى خطوط عريضة أو مماسية بينما قنويات الراتنج المحفزة تتكون كذلك فى لحاء بعض الصنوبريات . تنشيط خلايا PP وتكوين قنويات الراتنج الجرحية تحدث خلال مسار أوكتاديكانويد متضمنة تأشير بالجاسمونات والأثيلين .

P. Krokene

Norwegian Forest and Landscape Institute , N- 1432 As, Norway .

e-mail : Paal.Krokene@skogoglandskap.no

A. Sehaller (ed.), Induced Plant Resistance to Herbivory, () Springer Science + Business Media B.V. 2008

١- مقدمة

الصنوبريات تشمل ما يقارب من ٦٣٠ نوع من عاريات البذور الخشبية Gymnosperms ذات الانتشار الواسع من القطب الشمالى وخطوط مرتفعات الألب وحتى الغابات الاستوائية (Farjon, 2001). مع هذا فإن الصنوبريات من الأنواع شديدة الفقر بالمقارنة بتنوع الأنواع العديدة من كاسيات البذور Angiosperms ولكن الصنوبريات الموجودة حالياً تعتبر من النباتات الناجحة من مفاهيم متعددة. العديد من الأنواع تعتبر من النباتات السائدة فى مساحات مهولة وتعتبر من أشجار الغابات الكبرى ذات القيمة الإيكولوجية والاقتصادية الكبيرة. الصنوبريات تنمو بطول كبير ومتانة وتعمر أكثر من أية أشجار أخرى ومن الأمثلة الواضحة شجرة الخشب الأحمر Sequoia sempervirens (١١٥,٦ متر فى الطول) وشجرة Montezuma cypress (١١,٤ متر فى القطر) وشجرة الصنوبر Pinus longes (٤٨,٤٤ سنة). من الناحية التقسيمية فإن الصنوبريات تشمل القسم Pinophyta الذى يتضمن قسم واحد هو Pinopsida والذى يحتوى على رتبة مفردة ثابتة هى Pinales or coniferales. النوع الأكثر غنى وأوسع انتشار جغرافى من بين السبعة أو الثمانية عائلات المميزة لرتبة Pinales هو Pinaceae الذى يضم حوالى ٢٢٥ نوع بما فيها أشجار الغابات فى نصف الكرة الأرضية الشمالى فى الأجناس Pinus, picea, Larix, Apies. من العائلات الأخرى الهامة من الصنوبريات Cupressaceae (من ١٣٥ نوع) و Podocarpaceae (من ١٨٥ نوع) و Araucariaceae (٤١ نوع) وجميعها تشمل العديد من الأنواع الاستوائية وتلك الأنواع السائدة فى نصف الكرة الأرضية الجنوبى.

مفتاح نجاح الصنوبريات يتمثل فى استراتيجيات الدفاع الفعالة لها والتى تمكنها من الدفاع عن مهاجميها على امتداد ما يزيد على ٢٠٠ مليون سنة من تاريخية الوراثة النباتية Phylogenetic. النباتات طويلة العمر مثل الصنوبريات ارتبطت بوجود الأعداء الطبيعية خلال الزمن الإيكولوجى ومن ثم تحتاج لمدى عريض من الدفاعات الفعالة ضد الأعداء الخاصة والعامة (Feeny, 1976). هذا تحقق بواسطة تكامل الدفاعات التركيبية والمحفزة فى تناسق ومن خلال استراتيجيات دفاع متعددة الوسائل (Franceschi et al., 2005). الدفاعات التركيبية كما هو الحال مع فلين القلف والراتنج المتكون فى السابق والفينولات تعمل كخط دفاع أول يثبط أو يبطئ من الهجوم الابتدائى وإذا لم يكن ذلك كافياً تتحرك الدفاعات المحفزة لقتل أو احتواء المهاجمين. التكامل الزمانى والمكانى للدفاعات التركيبية والمحفزة يحتمل أن تساهم فى خفض التكاليف الكلية للدفاع. يمكن تمييز نوعين من الدفاعات المحفزة فى الصنوبريات بناء على مستوى التعقيد فى التنظيم الخاص بها. على المستوى الأبسط تنتج استجابات الدفاع نتيجة لتغيير فى تمثيل الخلايا الموجودة مثل اللجننة فى جدر الخلايا وتحفيز إنتاج الراتنج فى قنوات الراتنج سابقة

التكوين وتنشيط الاستجابة كفرط الحساسية . على مستوى التنظيم الأكثر تعقيداً توجد استجابات الدفاع المحفزة التي تتضمن التغيرات في انقسام وتفرق الخلية مما يؤدي إلى تكوين قنوات الراتنج الجرحية وأدمة الجرح .

الدفاعات التركيبية والمحفزة في الصنوبريات قد تكون ذات طبيعة ميكانيكية وكيميائية. الدفاعات الميكانيكية تتكون من عناصر تركيبية والتي تحقق خشونة أو سمك في الأنسجة ومن ثم تتداخل مع النفاذية والهدم بواسطة المهاجمين . الدفاعات الميكانيكية البارزة في سوق الصنوبريات تشمل حاجز الدفاع الخارجي (الأدمة وقلف الفلين) والعناصر الخشنة للحاء (سكليرنشوما وبلورات اكسالات الكالسيوم) وتغليف النسيج بالبوليمرات (مثل اللجنينات والسوبرين) . الدفاعات الكيميائية تشمل المواد ذات التأثيرات السامة أو المرتبطة مثل الأليلوكيميائيات والبروتينات والإنزيمات . الدفاعات الكيميائية في الصنوبريات في الغالب تتكون من حزم من الكيميائيات المخزنة (مثل الفينولات والتربينويدز) التي تنطلق بعد الهجوم . يوجد تداخل واضح بين الطرق المختلفة لتقسيم الدفاعات في الصنوبريات حيث أن نفس وسائل الدفاع قد تشمل الوسائل الكيميائية والميكانيكية وقد يعبر عنها بالدفاعات التركيبية والمحفزة . الراتنج كمثال يعتبر مكون دفاع هام وكبير في العديد من الصنوبريات وهو ينتج تركيبياً ويخزن في قنوات الراتنج سابقة التكوين ولكن إنتاجه يمكن أن يحفز كذلك في قنوات الراتنج سابقة التكوين (Ruel et al., 1998) أو في قنوات الراتنج المحفزة الجرحية . لقد اتضح بعد ذلك أن الراتنج سام كيميائياً للحشرات والفطريات كما أن له خصائص دفاع ميكانيكية بواسطة التأثير اللاصق والعضو تحت ضغط عندما يهاجم الكائنات التي تخترق القلف .

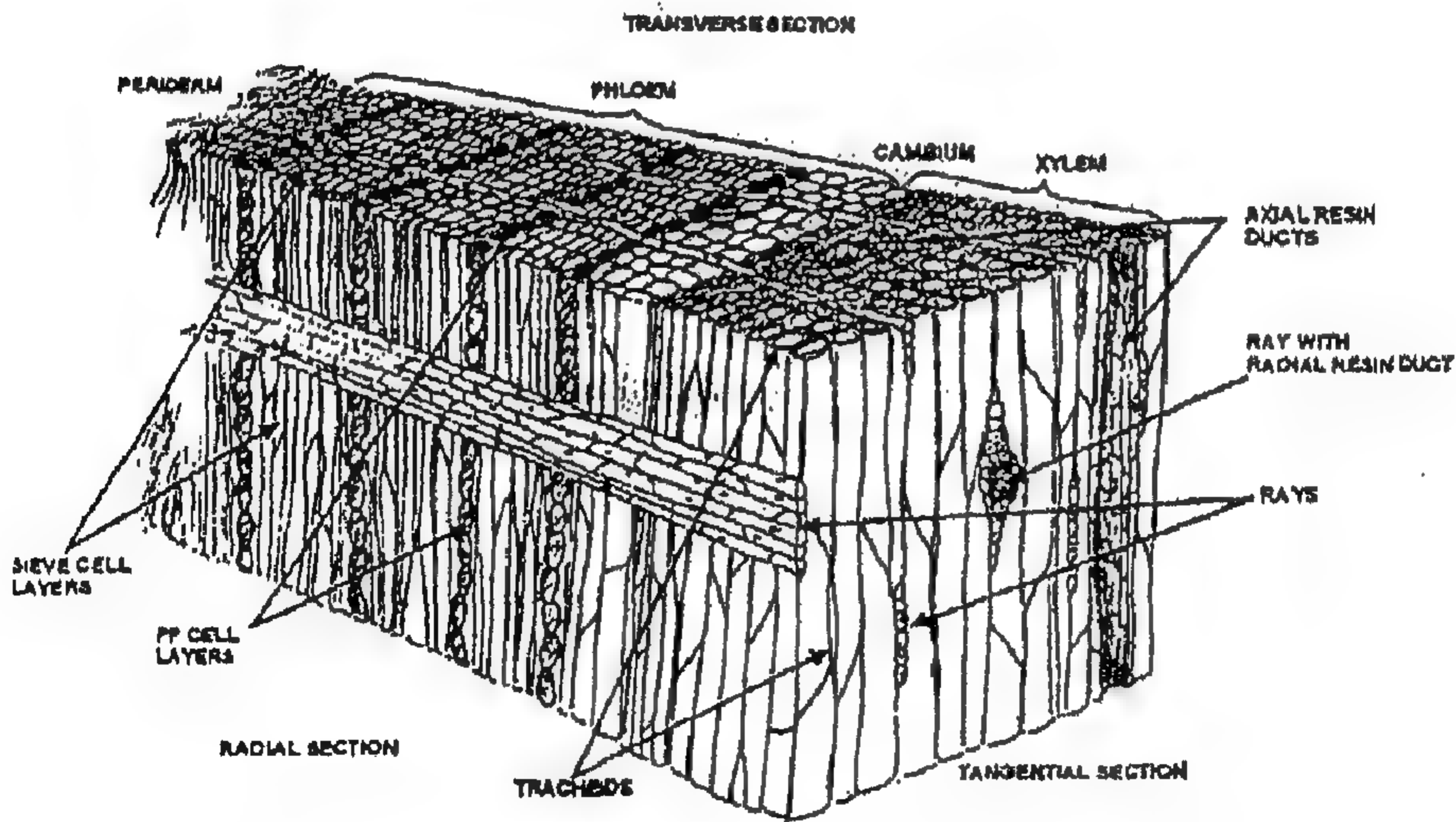
في هذا المقام سوف نتناول اثنان من مكونات الدفاع الهامة من الناحيتين التشريحية والكيميائية للقلف والخشب الغض في الصنوبريات . خلايا البرانشيما ذات المحتوى المتميز من الفينولات العديدة تحدث في قلف جميع الصنوبريات وهي من أكثر الخلايا الحية وفرة للماء الثانوي . هذه الخلايا البرانشيمية عديدة الفينولات (خلايا PP) متخصصة في تخليق وتخزين المركبات الفينولية وبسبب محدودية الحدوث والأدوار الدفاعية المتفاوتة فإنه ينظر إليها كنوع خلية منفرد أكثر أهمية في دفاعات الصنوبريات . خلايا PP تنتج خلال تطور اللحاء العادي ولكن تحدث تغيرات مكثفة استجابة للهجوم ومن ثم تعتبر موقع هام لكلا الدفاعات التركيبية والمحفزة . هناك مكون دفاعي هام آخر في الصنوبريات يتمثل في تركيبات مختلفة للراتنج والتي قد توجد تركيبياً أو تحفز في القلف والخشب الغض للعديد من الأنواع . في هذا المقام سوف نركز على قنوات الراتنج الجرحية (TRDs) والتي كما يشير الاسم تحفز بعد تحديات حيوية أو لا حيوية TRD's توجد في الخشب حيث تظهر كخطوط عرضية ولكن قنوات الراتنج المحفز تتكون كذلك في لحاء بعض الصنوبريات . تحفيز خلايا PP , TRD's ترتبط بظاهرة المقاومة

الجهازية المحفزة والتي وضعت في عدد قليل فقط من عائلة Pinaceae ولكنها يبدو وجودها بشكل عريض في الصنوبريات .

٢- خلايا البرانشيمية عديدة الفينولات PP

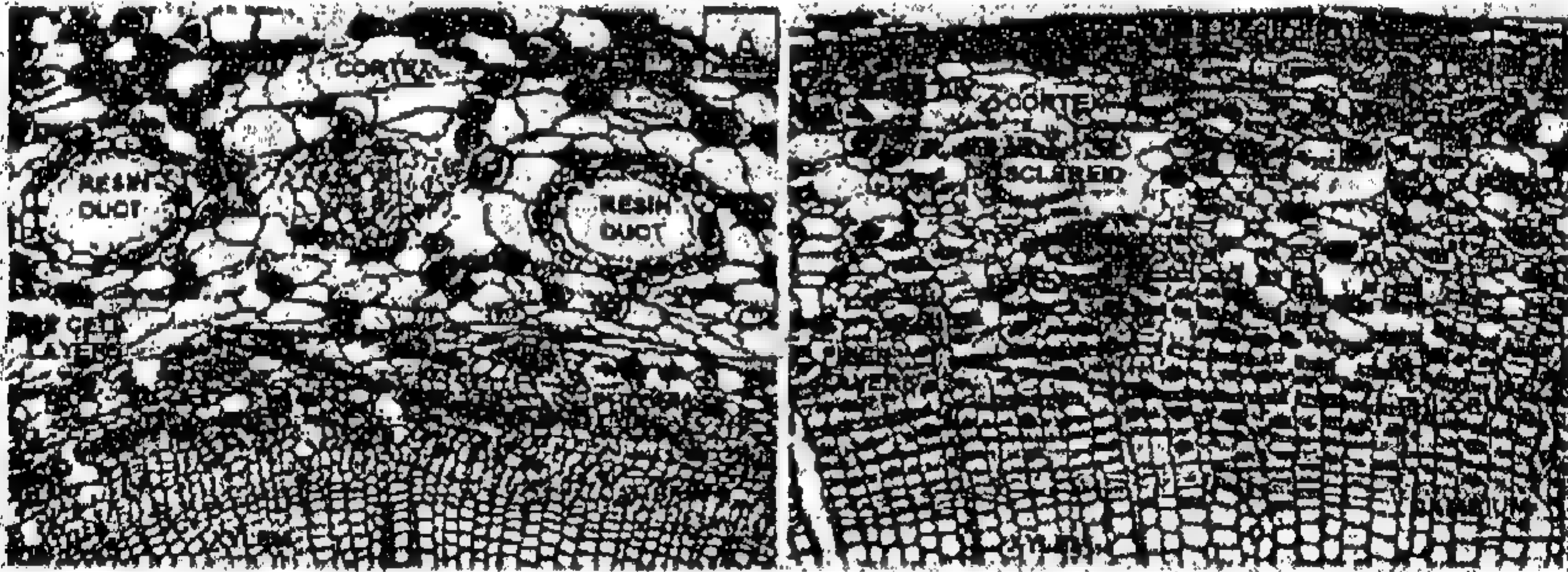
٢-١- تشريحية وتطور خلايا PP

يبدو أن خلايا البرانشيمية متعددة الفينولات تلعب دوراً بارزاً في دفاع عائلات الصنوبريات التي درست (Hudgins et al., 2003) (الشكل ٥-٢) . إذا أخذ في الاعتبار وفرتها وأهميتها في قلف شجرة الصنوبر فإنه مما يثير الدهشة قلة ما نشر عن تركيبها ووظيفتها حتى عام ١٩٩٨ عندما نشر الباحث Franceschi ومعاونوه أول سلسلة من الإصدارات عن تشريحية وتطور وأدوار خلايا PP في الدفاعات التركيبية والتحفيزية . شجرة البيسية النرويجية اتخذت كنموذج في معظم هذه البحوث والدراسات ولكن الدراسات على صنوبريات عائلات أخرى مثل Cupressactae و Podocatpacaae و Araucariacene و Taxaceae أظهرت الأهمية العامة لخلايا PP في دفاعات أشجار الصنوبر .

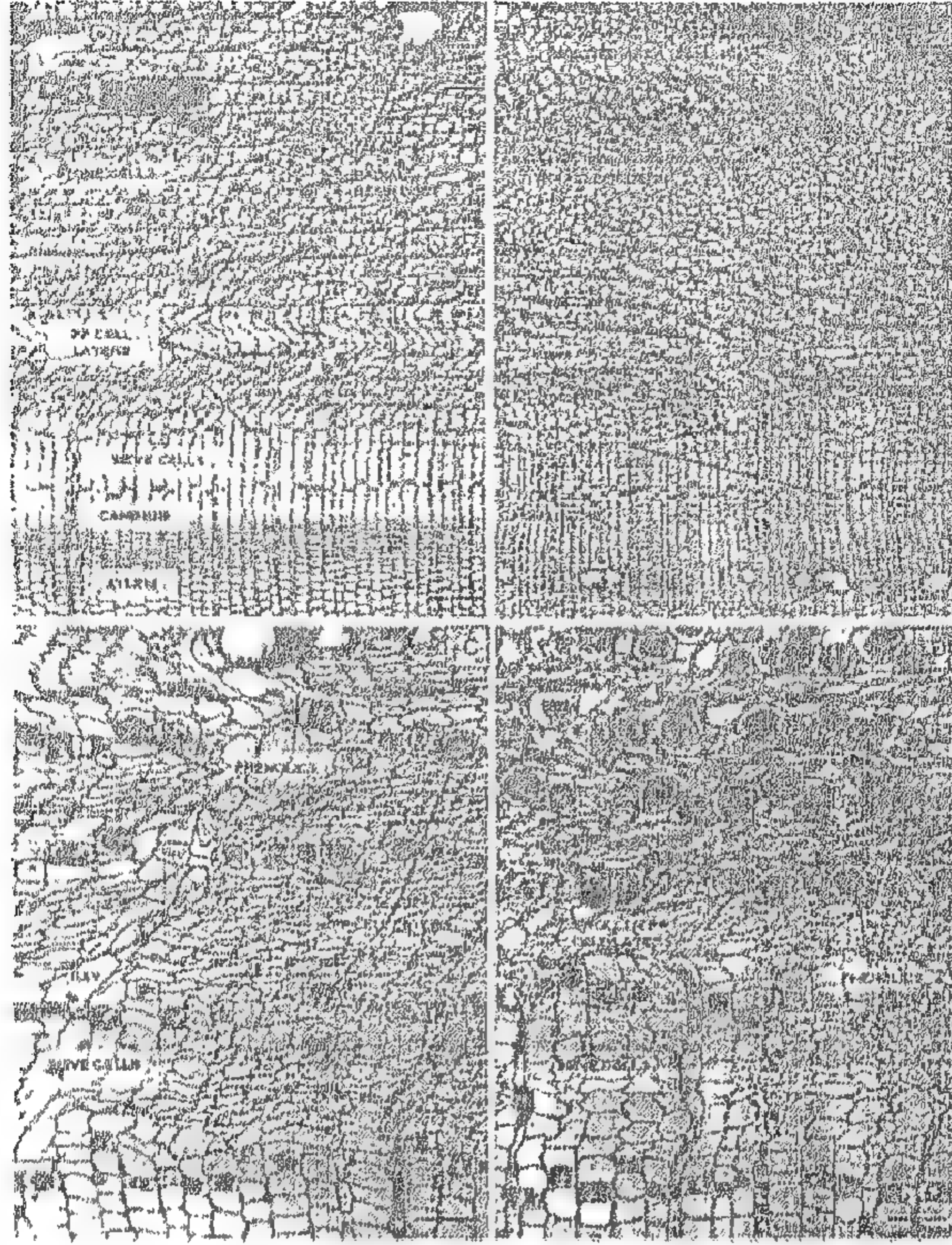


شكل (٥-٢) : رسم ثلاثي الأبعاد يوضح تشريحية القلف الأساسي والخشب الغض في سوق الصنوبريات باستخدام شجرة البيسية النرويجية كمثال . الخصائص المميزة تتمثل في الطبقات العديدة المركزية للتراكيب الدفاعية في القلف بما فيها طبقات الأدمة وخلايا البرانشيمية عديدة الفينولات والخشب الغض مع قنوات الراتنج المحورية والقطرية .

أظهر الفحص الميكروسكوبى لقلف أشجار الصنوبر أن الدفاعات توجد وتتركز فى المركز فى تصميم متعدد الطبقات حول الكامبيوم الوعائى . هذا واضح فى عائلة Pinaceae حيث أن خلايا PP تنظم خطوط مركزية متميزة Concentric rows (عرض خلية واحدة) فى اللحاء الثانوى مفصولة بواسطة ٩ - ١٢ خط من خلايا الغربلة وتربط خلايا الألبومين التى تنتشر داخليا مع قليل من خلايا برانشيسكلاريديس أو الخلايا الحجرية (الشكل ١٠٥ ، ٢٠٥ ، A) . فى صنوبريات المناطق المعتدلة فإن اسطوانات خلايا PP تكون حلقات سنوية فى اللحاء حيث أن خط جديد يتكون مع بداية كل موسم نمو. التوجه عموديا نحو خلايا PP الموجهة عرضيا يحدث امتداد للخطوط القطرية من اللحاء الثانوى فى الخشب . جوارا للكامبيوم فإنها تكون فى العادة فى سلاسل عديدة فى الأجزاء الشائخة من اللحاء مع قناة راتنج قطرية مركزية (Krekling et al., 2000) (الشكل ٤-٥ A) .



شكل (٣-٥) : قطاعات عرضية توضح التنظيم المركزى للأنسجة فى القلف (القشرة واللحاء الثانوى) وفى الخشب لنوعين من الصنوبريات . (A) تمثل ساق صغير من البلسم فير تمثل تشريحية اللحاء من النوع Pinaceae طبقتان سنويتان من البرانشيمية متعددة الفينولات للخلايا (P) مفصولة بواسطة طبقة أسمك من الخلايا الغربالية . قنوات الراتنج المحورية الكبيرة وجدت فى القشرة . (B) ساق صغير للصنوبر بالدسيريس يوضح تشريحية اللحاء غير المطابق للعائلة Pinaceae مع خطوط بديلة لخلايا الألياف مفصولة بواسطة طبقات رقيقة من الخلايا الغربالية . كلا خلايا PP والخلايا الليفية تستقر فى الطبقات السنوية مع خط واحد من الخلايا لكل سنة (١٠٠ ميكروميتر) .



شكل (٤-٥) : قطاعات عرضية للحاء الثانوي للصنوبر النرويجي *Picea alba* يوضح تشريحية وتنظيم البرانشيما متعددة الفينولات لخلايا PP . (A) قطاع عرضي من شجرة المقارنة توضح النسيج العادي والتركيب مع الطبقات المركزية لخلايا PP مفصولة بواسطة خلايا غربالية . قناة راتنج قطرية كبيرة في داخل سلاسل متعددة الخطوط تعبر للحاء والخشب . عنايد الخلايا الحجرية كثيفة اللجننة تتوزع عشوائياً في الأجزاء القديمة من اللحاء . خلايا الاسكليتريشيمية هذه تشق من خلايا PP مع تقدم اللحاء في العمر . الحاجز ١٠٠ ميكرومتر . (B) قطاع عرضي يوضح تحفيز تكوين الأدمة بالجرح وخلايا PP في القلب بعد العدوى بالفطر أزرق الصبغة . أدمة الجرح تتكون من الخلايا السوبيريانية واللجنينية تحت أدمة الجرح القريبة من الكامبيوم يحدث تكبير وتضخم في خلايا PP بسبب حركة محتوى فجوات الفينولات العديدة حيث أن خلايا PP في المنطقة المصابة بأدمة الجرح التي تفرغ محتوياتها . قناة الراتنج الجرحي تتكون تحفيزاً في الخشب . الحاجز ١٠٠ ميكرومتر . (C) أكبر تكبير للطبقات السنوية العادية غير المنشطة لخلايا PP في القلب . تظهر أربعة صفوف سنوية من خلايا PP مفصولة بواسطة ١٠ - ١٢ طبقة من الخلايا الغربالية . الحاجز ٥٠ ميكرومتر . (D) التكبير الضخم للقلب بعد ٣ أسابيع من العدوى بالفطر سيراتوسيستس مولونيكا يوضح أن خلايا PP التي تحرك محتواها من الفينول وتزيد في الحجم . الخلايا الغربالية القديمة تضغط في مناطق كثيفة من جدر الخلايا بواسطة خلايا PP المنتخبة .

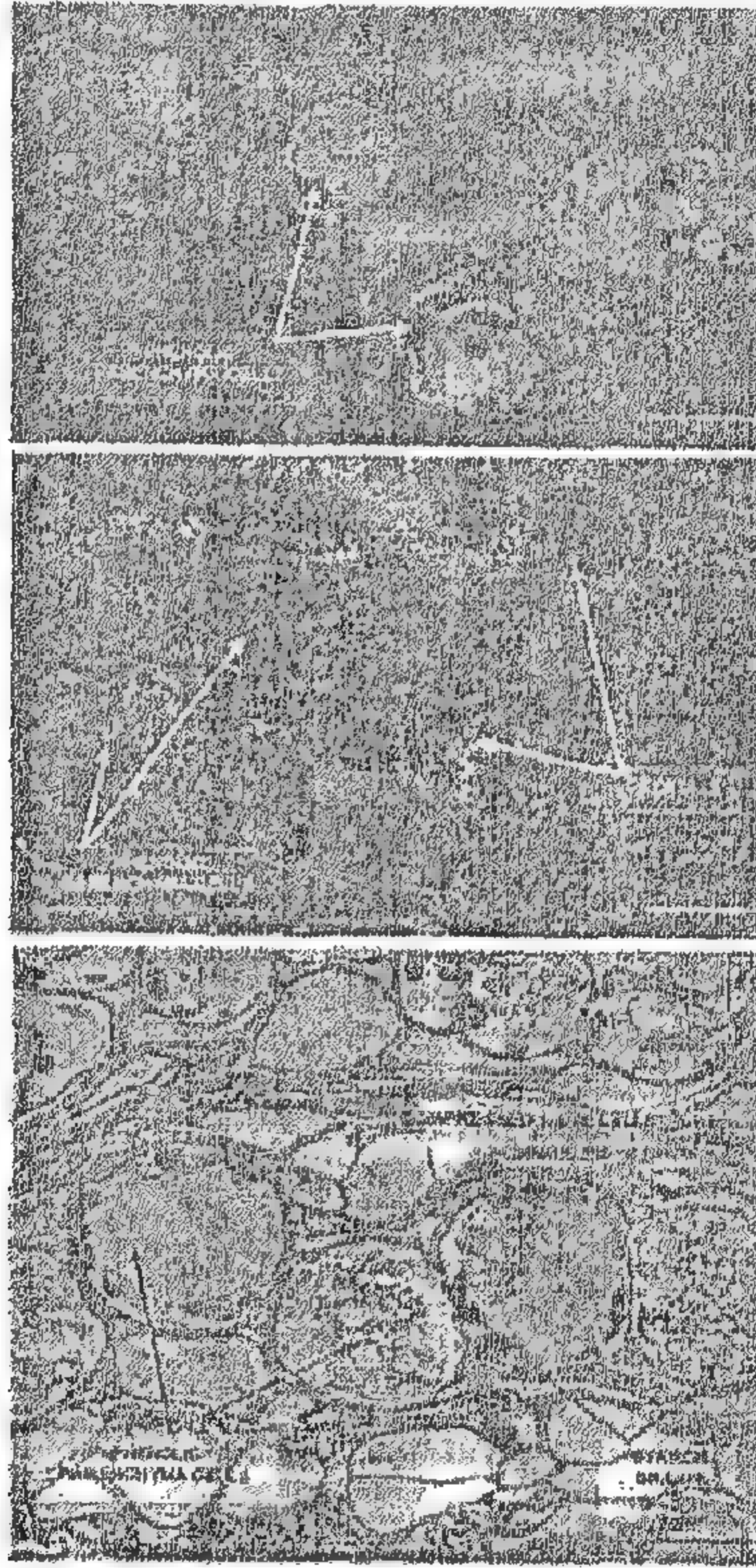
فى الصنوبريات غير عائلة Pinaceae فإن خلايا PP والأشعة تنظم فى تشابه ولكن الرصات المتداخلة للخلايا الغربالية عبارة عن قليل من صفوف الخلايا السمكية (الشكل ٥ - ٥ B) والتي تقطع طبيعياً بواسطة صف مركزى كامل من خلايا الاسكليرنشيمية الليفيه (شكل ٥-٢ B) . خلايا الألياف تملك جدار ثانوى لجينى سميك ويعمل كعناصر تركيبية وكوسيلة دفاع ميكانيكية (Hudgins et al. 2003a , 2004) . الترتيب عالى النظام لصفوف الألياف كثيفة القراءات وخلايا PP يحتمل أن تكون حاجز طبيعى هائل للكائنات التى تحاول اختراق اللحاء . الخلايا الليفيه تتطور من الخلايا البادئة التى تتميز عن خلايا PP وتتطلب فى العادة ٢ - ٣ سنوات كى تصبح كاملة اللجننة .

أهمية خلايا PP فى دفاع الصنوبريات اتضحت من جراء الحقائق التى تشير إلى إنتاجها مبكراً فى كلا مراحل النمو الأولية والثانوية وأن مصادرها الهامة تستخدم فى تطورها وصيانتها . خلايا PP تنتج بواسطة الكامبيوم البينى خلال المراحل المبكرة من النمو الأولى فى الصنوبر النرويجى وبواسطة السنة الثانية للنمو يحدث الإنتاج المنتظم لخلايا PP (الشكل ٥-٣ A) . فى الظروف المناخية الموسمية تتكون طبقة سنوية جديدة من خلايا PP حال بدء نشاط الكامبيوم بعد الكمون الشتوى عند بداية كل موسم نمو من طبقة خلايا غير متشكلة (Krekling et al., 2000) . من المثير للاهتمام أن طبقة خلايا PP الجديدة تنتج كذلك بعد الخلل الكبير الآخر فى نشاط الكامبيوم فى صنوبر النرويج مثل ما يحدث من هجوم المرض (Krokene et al.2003) .

نضج خلايا PP عملية بطيئة قد تستغرق ٥ سنوات أو أكثر فى صنوبر النرويج . خلال هذه العملية تزداد الخلية فى الحجم وبالتدريج تصبح مستديرة ويزداد جدر الخلية فى السمك والمكونات الفينولية تصبح أكثر كثافة . خلايا PP الإضافية قد تتطور من خلايا برانشيمية غير متشكلة فيما بين الطبقات السنوية المنتظمة خلال السنوات الخمسة الأولى وحتى الثامنة بعد التكوين . فى تتابع للزيادة التدريجية فى حجم خلية PP خلال النضج فإن الخلايا الغربالية المحيطة تتكسر بالتقدم وتتكل وتصبح غير فعالة وظيفياً (الشكل ٥ - ٣ A و C) . صفوف خلايا PP تعيش لسنوات عديدة حية ومع هذا فإن الصنوبر النرويجى فى الأشجار بعمر ١٠٠ سنة وجد أن صفوف خلايا PP التى تكونت منذ ٧٠ عاماً مضت كانت تحتوى على خلايا حية . خلايا PP فى طبقات اللحاء القديمة قد تدخل فى الانقسام وهذا يمكن الشجرة من صيانة الطبقات السليمة من خلايا PP مع زيادة قطر الساق خلال النمو . بالإضافة إلى ذلك فإن خلايا PP الجديدة تتجدد وتتعافى فى الطبقات

الشائخة للحاء الثانوى بواسطة تشكل خلايا البرانشيمية الباقية الموجودة أو مشتقات الخلايا الشعاعية (Fan , 1990 , Krekling et al 2000) .

المادة الفينولية التى تميز خلايا PP تخزن فى داخل تجويف كبير الذى قد يملأ كل حجم الخلية (المكون أو الجسم الفينولى) . الطبيعة الفينولية لخلايا PP يستدل عليها من لونها الفلوروسينى المصفر البراق عندما تتعرض للضوء الأزرق (٤٥٠ - ٤٩٠ نانوميتر - الشكل ٥-٥ A) والصبغ الشديد (وخمد الفلوروسينس) بواسطة أوزميوم تتروكسيد وطريقة شف مع الحامض الدورى (الشكل ٥-٤) ووجود إنزيم فينيل الانسين أمونيا ليز (PAL) وهو الإنزيم الفاتح فى تخليق الفينولات . محتوى التجويف فى خلايا PP ذات حركية عالية ويتغير فى المظهر على امتداد العام وكذلك بعد هجوم الممرض أو حدوث الجروح ميكانيكيا (الشكل ٥ - ٤ D) .



شكل (٥-٥) : تكبير ضخم لخلايا البرانشيمية عديدة الفينول (PP) . خلايا PP تسمى بعد تضمين مكوناتها الفينولية الفجوية التى تغطى معظم حجم الخلية . (A) المادة الفينولية العديدة تبعث وميض مميز وفلوريسنس مصفر عندما تضاء بالضوء الأزرق (٤٥٠ - ٤٩٠ نانوميتر) . (B) خلايا PP فى صنوبر الباسفيك كما يظهر فى الميكروسكوب SEM فى الفعل الخلفى المنتشر مما يوضح كيف أن جدر الخلايا تشكل قشرة مع بلورات اكسالات الكالسيوم الخلوية . البلورات الخلوية فائقة الصغر تميز الصنوبريات بخلاف Pinaceae على عكس أنواع Pinacea التى فيها بلورات خلوية داخلية أكبر . (C) خلايا PP

تخزن حبيبات النشا في السيتوبلازم وهي مرئية بوضوح بعد الصبغ مع الكربوهيدرات بالأحماض في طريقة شيف . الحاجر ٢٥ ميكرومتر .

في صنوبر النرويجي فإن كثافة المكون الفينولي تزداد خلال الخريف وتظهر مصبوغة بكثافة وجبية بحلول منتصف الشتاء . خلال الربيع والصيف تتناقص الكثافة مرة أخرى وتعود متجانسة وتظهر الصبغة خفيفة في منتصف الصيف . لقد أجريت محاولات عديدة لتقسيم خلايا PP في أربعة أنواع بناء على مظهر محتوى الفجوات ولكن أى علاقة بين مورفولوجي التجايف والمقاومة مازالت غير واضحة .

بالإضافة إلى كونها مخزن رئيسي للمركبات الفينولية فإن خلايا PP تراكم وتخزن الكربوهيدرات كذلك في صورة حبيبات نشا وليبيدات (الشكل ٥-٥ C) . النشا يتكون باضطراب خلال شهور الصيف في صنوبر النرويج وتغيب تماماً في الشتاء ثم تتراكم ثانية في الربيع (Krekling et al., 2000) . بالإضافة لعملها كاحتياطي للطاقة فإن النشا والليبيدات في خلايا PP يمكن أن تستخدم كذلك في التخليق السريع للكيميائيات الدفاعية استجابة للهجوم .

حيث أن خلايا PP والخلايا الشعاعية تكون غالبية الخلايا الحية في اللحاء فإنه يحتمل أن تشترك في النقل القطري والمحيطي للإشارات التي تنشط استجابات الدفاع . توكباً مع هذه الملحوظة يوجد كم هائل من ارتباطات الخلايا (Plasmodesmata) Symplasmic مما يسهل من نقل الجزيئات الإشارية والمغذيات بين خلايا PP وبين الخلايا الإشعاعية وخلايا PP المجاورة وبين الخلايا الإشعاعية (Krekling et al., 2000) .

خلايا PP تشترك أيضاً في إنتاج وسائل الدفاع الميكانيكية الهامة التي توجد في اللحاء الثانوي لجميع الصنوبريات . توزيع الخلايا الحجرية (Sclereids) في اللحاء الثانوي للصنوبر النرويجي أدى إلى الاقتراح بأن هذه الخلايا تنشأ من خلايا PP (Franceschi et al., 2005) . الخلايا الحجرية ضخمة وغير منتظمة الشكل مع جدر خلايا ملجننة سميكة تحدث على صورة خلايا فردية أو في عناقيد في جميع أنواع العائلة Pinaceae بالإضافة إلى Araucaria . بسبب خشونتها الطبيعية فإن الخلايا الحجرية يمكن أن تكون طاردة للكائنات التي تنقب القلف . في خلايا PP الهائلة Pinaceae المحورة فإنه وجد أنها تنتج بلورات اكسالات الكالسيوم التي تميل للتداخل مع اختراق القلف كذلك (الشكل ٥-٥ B) . على خلاف خلايا PP العادية فإن هذه الخلايا المحورة تموت عند النضج وتملك جدر خلوية سوبرينية . بللورات الكالسيوم قد تحدث كذلك في فجوات بعض خلايا PP على امتداد المادة الفينولية (Franeeschi et al., 1998)

٢-٢ - الاستجابات المحفزة في خلايا PP

بالإضافة إلى كونها مكون تרכيبي كبير في اللحاء الثانوى فإن خلايا PP تشترك في مدى عريض من استجابات الدفاع المحفزة بما فيها تنشيط الخلايا الموجودة وإنتاج خلايا PP إضافية وتكوين أدمة بسبب الجرح . تنشيط أو انتفاخ خلايا PP الموجودة تبدأ بعد أيام قليلة من الهجوم وتؤدي إلى زيادة ٤ أمثال في حجم خلية PP وتغيير في مظهر المحتوى الفينولى (الشكل ٤-٥) . الزيادة الرهيبة في حجم خلية PP تؤدي إلى انضغاط مكثف للخلايا الغربالية المحيطة وعلى الأقل في صنوبريات عائلة Pinaceae التى تنتج العديد من طبقات الخلايا الغربالية كل سنة ويتحول اللحاء المحفز إلى وحدات أو كتل كثيفة من جدر الخلايا المفصولة بواسطة طبقات من خلايا PP المنتفخة (الشكل ٤-٥ B , D) . بالإضافة إلى دورها كحاجز طبيعي لاختراق الكائنات الغازية فإن دمج جدار الخلية مع حاجز خلايا PP يبدو أنه يعاد تعويضه بواسطة الفينولات التى تنفرد من خلايا PP المحفزة وتترسب في جدر الخلايا الغربالية المحيطة .

خلايا PP الجديدة أو الإضافية قد تحفز كى تتطور أو تنشأ من خلايا برانشيمية غير متشكلة فيما بين طبقات PP السنوية المنتظمة . هذا ليس جزء من برنامج التطور العادى للحاء الثانوى ولكنه يرى فقط بعد التحديات الشديدة كما هو الحال مع عدوى فطرية مكثفة . إنتاج خلايا PP إضافية قد تحفز كذلك بواسطة المعاملة بالمثل جسمونات وهو محفز لاستجابات الدفاع فى النبات والتى تحفز استجابات متشابهة كما هو الحال مع الممرضات الفطرية والحشرات فى الصنوبريات . مع مرور الوقت فإن خلايا PP الإضافية تظهر على بعد سنتيمترات عديدة من نقطة التحفيز وتصبح متوفرة تغطى ٥٠% من محيط اللحاء فى الصنوبر النرويجى بعد ١٥ يوم من العدوى الفطرية الكثيفة . بسبب أن تشكل خلايا PP الإضافية عملية بطيئة نسبياً بالمقارنة بتنشيط الخلايا الموجودة فإن هناك احتمال بدور فى تحفيز المقاومة على المدى الطويل عما هو الحال مع تحقيق المقاومة بمجرد حدوث الهجوم . يبدو أن إنتاج خلايا PP الإضافية مشترك فى ظاهرة المقاومة الجهازية المحفزة فى صنوبر النرويج .

خلايا PP لها دور جهازى فى تكوين أدمة الجرح . هذا جزء ضرورى لتحقيق الدفاع فى أشجار الصنوبر حيث أنها تعمل فى احتواء المناطق المضارة وتعيد إنشاء حاجز سطح مستمر . الأدمات التى تنتج من الجروح تنتج بواسطة تنشيط خلايا PP الموجودة والتى تبدأ فى الانقسام لتكوين فلين من الجرح أو كامبيوم الفلين (الشكل ٤-٥ B) . على غرار الأدمة العادية فإن هذا المرستيم ينتج نسيج الفلين (الفلين فى الخارج بينما ينتج الفللوديرم فى الداخل ومن ثم يعيد تكوين حاجز السطح باستمرار . الأنسجة

التالفة خارج هذه الأدمة الجديدة تكون معزولة من إمدادات الغذاء من خلال اللحاء الثانوى وتحجب على صورة لحاء جديد ينتج بواسطة الكامبيوم الوعائى .

٢-٣- دليل عن الأدوار الدفاعية لخلايا PP

التنظيم التشريحي والطبيعة الكيميائية والاستجابات المحفزة لخلايا PP أدت إلى الاقتراح بأن هذه الخلايا هامة في تحقيق المقاومة ضد هجوم الآفات . الدور الدفاعى لخلايا PP يعضد بواسطة تجارب العدوى بخنفساء القلف والعدوى بفطر الصبغة الزرقاء حيث أتضح أن مقاومة الأشجار تطورت فى توازى مع الوقت المطلوب لتنشيط خلايا PP. الأشجار التى عوملت بعدوى غير قاتلة من الفطر قبل ٣ - ٩ أسابيع من العدوى الصناعية الكثيفة أظهرت نشاط قوى لخلايا PP وكانت أكثر مقاومة للتحديات اللاحقة عما هو الحال مع الأشجار غير المعاملة . الأشجار التى عوملت قبل أسبوع واحد من العدوى المكثفة لم تظهر أى تنشيط لخلايا PP وكانت حساسة كما فى الأشجار غير المعاملة . فى هذه التجربة فإن حاجز خلايا PP التكوينية كان دائراً حيث أن الفطر الذى تم حقنه صناعياً فى الجروح سلك جميع الطرق نحو الكامبيوم الوعائى . عندما تم حقن الفطر فى جروح القلف السطحية حتى ينتهى الحقن فى منتصف طبقات خلايا PP ثم حدوث تقييد كامل لنمو الفطر مما يؤكد على دور فى الدفاع لخلايا PP التكوينية والمتمركزة فى المركز . العديد من فطريات الصبغة الزرقاء تمثل ممرضات ناجحة للصنوبريات لأنها تطوق دفاعات القلف عن طريق عمل طريق لحركة خنافس Scolytid فى أنفاق خلال القلف إلى الكامبيوم الوعائى (Paine et al., 1997) .

الطبيعة الكيميائية الحقيقية للمادة الفينولية داخل خلايا PP غير معروفة . الاستنتاج بأن المادة ذات طبيعة عديدة الفينول تعتمد على الدليل الميكروسكوبى مثل التشابه التركيبى للفينولات العديدة فى أنواع الخلايا النباتية الأخرى وكذلك على الفلوروسينية الذاتية وخصائص الصبغ وموضع PAL فى غشاء البلازما وسيتوبلازم خلايا PP بواسطة موضع المناعة . من الإنزيمات الهامة الأخرى المشتركة فى تخليق الفينول مثل كسالكون وستيلبين سينسر وجد كذلك أنها تزيد فى التركيز فى قلف شجرة الصنوبر بغد العدوى بالفطر مما يوضح دور للفينولات فى دفاعات القلف . أظهرت العديد من التحاليل الكيميائية المباشرة العديدة للحاء أشجار الصنوبر وجود تركيزات عالية من الفينولات الذائبة مثل الفلافوتويدز والاستيلبينز (Zeneil et al., 2006) . هذا ولو أن الفينولات

الذائبة التي توجه نفسها للتحليل الكيميائي الروتيني لا يبدو أنها محددة أو مؤثرة في الدفاع لأنها تحفز ببطء فقط بواسطة العدوى بالفطر وحدث الجروح ميكانيكياً وهجوم خنافس القلف . تنشيط خلايا PP قد يرتبط بالتغيرات في كثير من الفينولات المعقدة مثل التانينات المكثفة ذات الوزن الجزيئي العالي الفينولات المرتبطة بجدار الخلية ولكن هذه لم تختبر .

٣- قنوات الراتنج الجرحى Traumatic Resin ducts

٣-١- الدفاعات المعتمدة على الراتنج في الصنوبريات

يتكون راتنج الصنوبر لحد كبير من التربينات التي تتركب في الأساس من التربينات الأحادية (ك ١٠) والتربينات الثنائية (ك ٢٠) مع كميات صغيرة من سيسكويتربينات (ك ١٥) وغيرها من المركبات . يعتبر الراتنج بوجه عام في نظام الدفاع في الصنوبريات بسبب خواصه الطبيعية وتأثيراته السامة والطاردة على العديد من آكلات الأعشاب والممرضات . راتنج الصنوبريات يخلق ويتراكم في تراكيب افرازية خاصة لتعقيدات تشريحية مختلفة تتراوح من خلايا الراتنج الفردية المتفرقة وتجاويف الراتنج شبيهة بالجراب المبطن بالخلايا الطلائية وحتى شبكات معقدة من قنوات الراتنج القطرية والمحورية المرتبطة داخلياً . تراكيب الراتنج هذه قد توجد تركيبياً أو قد تكون محفزة وتوجد في العديد من الأنسجة المختلفة بما فيها الخشب واللحاء والقشرة والزوائد .

لقد وجدت التراكيب المنتجة للراتنج في العديد من ذرات الصنوبر ولكنها لا تتساوى في الأهمية . في الحقيقة فإن معظم الصنوبريات في العائلات *Araucariaceae* , *Podocarpaceae* , *Cupressaceae* , *Taxaceae* , *Cephalotaxaceae* (وهي ليست عائلة *Pinaceae*) تعاني من نقص تراكيب الراتنج سابقة التكوين في اللحاء والخشب . Bannan , (Fahn , 1979) وتراكيب الراتنج المحفزة تظهر فقط في بعض الأجناس (الجدول ٥-١) . بدلاً من ذلك فإن الأنواع غير *Pinaceae* يبدو أنها تعتمد على دفاعات القلف التركيبية الكثيفة في صورة خلايا PP وخلايا ليفية ملجننة . لقد تأكد من حقيقة أن صنوبريات عائلة *Pinaceae* التي تعتمد على الدفاعات المرتبطة بالراتنج أكثر حساسية لخنافس القلف القاتلة للشجرة (عائلة *Scolytidae*) بالمقارنة بالأنواع في مجموعة غير *Pinaceae* والتي نادراً ما تعاني من هجوم خنفساء القلف (Hudgins et al., 2004) . خصوصية خنافس القلف القاتلة على الصنوبريات المنتجة للراتنج تتضمن استخدام الراتنج كإحدى لإنتاج الفورمونات التي تجمع مجموع الحشرات وفورمونات التجمع الفعالة يحتمل أن تكون ضرورية لقتل الشجرة حيث أن آكلات النباتات مثل خنافس القلف يجب أن تهاجم في أعداء كبيرة حتى تحدث التلف وتقتل الأشجار العائل الكبيرة .

خنافس القلف توضح كيف أن النشوء المرافق بين آكلات النباتات الحشرية وأشجار العائل قد تحول الدفاع في اتجاه الضعف . مازال معروف حتى الآن أن معظم الصنوبريات من Pinaceae وغيرها تدافع عن نفسها جيداً ضد خنافس القلف فإن هذه الاستراتيجيات المعاكسة تعطى مثال عن الاختلافات الكبيرة في استراتيجيات الدفاع ضد نفس الآفة .

تراكيب الراتنج التكوينية توجد في قشرة ولحاء معظم عائلة Pinaceae وقليل من صنوبريات غير Pinaceae وفي العادة في صورة قنوات وتجاويف راتنج (الشكل ٥-٦ ، جدول ٥-١) . بالإضافة إلى ذلك فإن العديد من أنواع Pinaceae ذات قنوات راتنج تكوينية متفرقة في الخشب العادي (جدول ٥-١) . قنوات الراتنج المحورية في القشرة (الجزء الخارجى لقلف الساق الصغيرة) قد يكون كبيراً جداً بالمقارنة بقنوات الراتنج الأخرى (الأشكال ٥-٣ ، ٥-٦ A) . تتكون هذه القنوات في حلقة محيطية بما أن القشرة تتكون خلال التطور الأولى للساق وقد توجد فيما لا يقل عن ٢٥ سنة في الصنوبر النرويجى (Christiansen et al. 1999) . القشرة حاجز دفاع هام في المراحل المبكرة من نمو الساق ولكن أدوارها الدفاعية تفعل بالتدريج في اللحاء الثانوى حيث أنها تطور طبقات أكثر كثافة . قنوات الراتنج التكوينية في اللحاء دائماً ما تكون قطرية وتقع جنباً إلى جنب في نطاق الشعاعات القطرية متعددة السلاسل المحاطة بواسطة شعاعات الخلايا البرانشيمية . القطاع العرضى لهذه القنوات يزداد في الحجم في الأجزاء القديمة من القلف وتكون كثيفة (الشكل ٥-٤ A) . قنوات الراتنج القطرية تحدث أولاً في اللحاء ولكن البعض يتحرك سريعاً وباستمرار من اللحاء إلى الخشب الطرى حيث ترتبط بقنوات الراتنج المحورى (الشكل ٥-٦ E) .

جدول (٥-١) : الأنواع المختلفة من تراكيب الراتنج في سوق الصنوبر تم عمل مجاميع للأجناس تبعاً للعائلات مع البداية مع Pinaceae (١١ مجموعة) واستمراراً مع Araucariaceae (٣٣ أجناس) و Podocarpaceae (١ من ١٨ - ١٩ جنس) و Cupressaceae (٧ من ٣٣ جنس) و Cpphalotoxaceae (١ في ٣ أجناس) وكذلك Taxaceae (٢ في ٣ أجناس)

Genus	Species	Cortical ducts	Phoem		Xylem		Reference
			constitutive	Inducible	Constitutiv e	Inducible	
<i>Abies</i>	>40	Yes	Cavities	No?	No	Cavities	Hudgins et al. (2004) and Wu and Hu (1997)
<i>Cedrus</i>	2-4	Yes	Cavities	No?	No	Axial	Hudgins et al. (2004) and Wu and Hu (1997)

<i>Pseudotsuga</i>	1	No	Cavities	No?	No	Cavities	Penhallow (1907), Bannan 1936 and Wu and Hu (1997)
<i>Tsuga</i>	9	Yes	Cavities	No?	No	Cavities	Hudgins et al. (2004) and Wu and Hu (1997)
<i>Nothotsuga</i>	1	Yes	Radial	No?	No	Axial	Wu and Hu (1997)
<i>Keteleeria</i>	3	Yes	Radial	No?	Axial?	Axial?	Wu and Hu (1997)
<i>Larix</i>	14	No	Radial	No?	Network ¹	Axial	Hudgins et al. (2003a) and Wu and Hu (1997)
<i>Pseudotsuga</i>	5	Yes	Radial	No?	Network	Axial	Hudgins et al. (2004) and Wu and Hu (1997)
<i>Cathaya</i>	1	Yes	Radial	No?	Network	Axial	Wu and Hu (1997)

تابع جدول (٥-١) : الأنواع المختلفة من تراكيب الراتنج في سوق الصنوبر تم عمل

مجاميع للأجناس تبعاً للعائلات مع البداية مع Pinaceae (١١

مجموعة) واستمراراً مع Araucariaceae (٣٣ أجناس) و

Podocarpaceae (١ من ١٨ - ١٩ جنس) و

Cupressaceae (٧ من ٣٣ جنس) و Cpphalotoxaceae

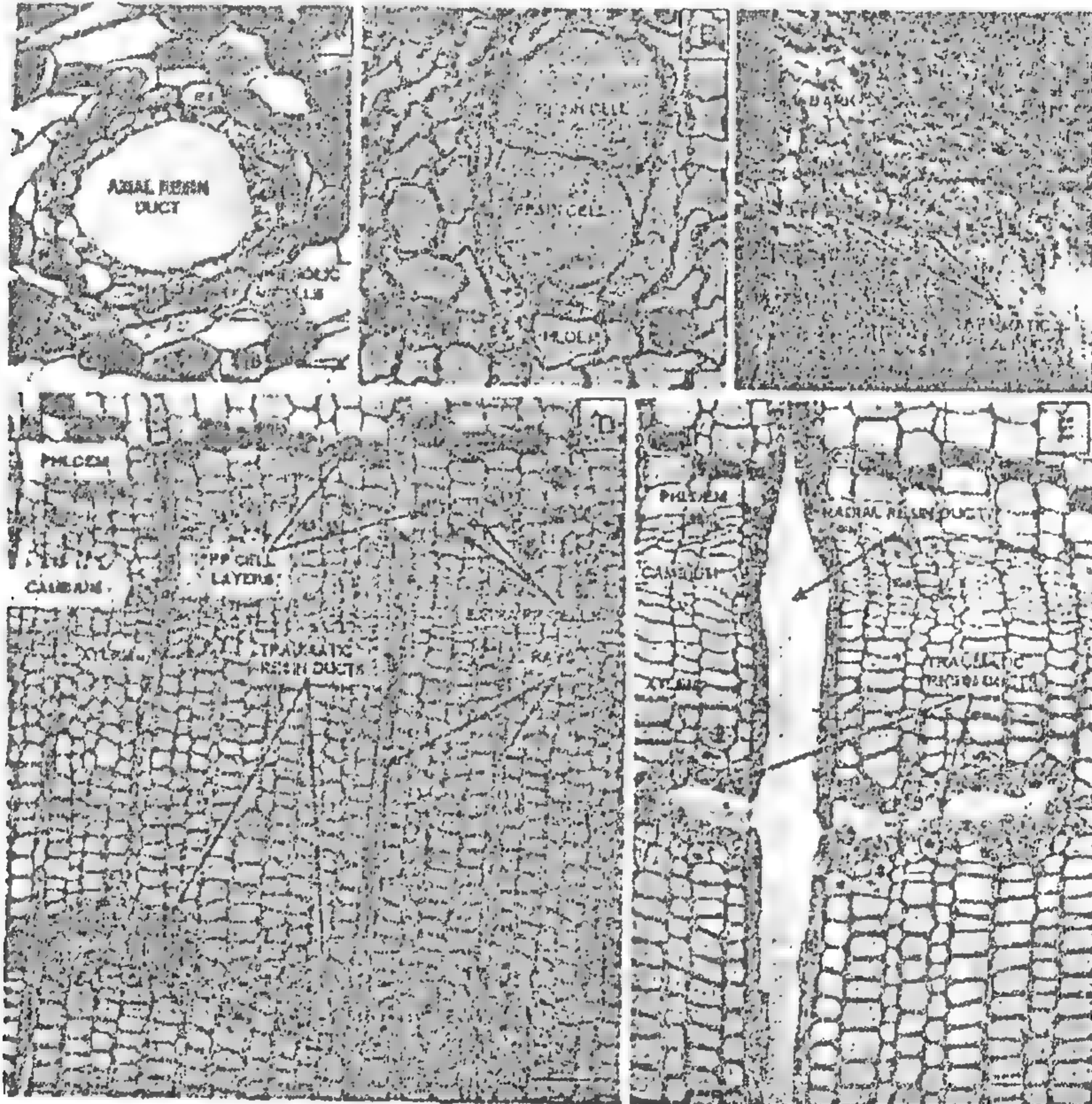
(١ في ٣ أجناس) وكذلك Taxaceae (٢ في ٣ أجناس)

Genus	Species	Cortical ducts	Phloem		Xylem		Reference
			constitutive	Inducible	Constitutive	Inducible	
<i>Picea</i>	35	Yes	Radial	No?	Network	Axial	Hudgins et al. (2004) and Wu and Hu (1997)
<i>Pinus</i>	115	Yes	Radial	No?	Network	(axial) ²	Hudgins et al. (2004) and Wu and Hu (1997)
<i>Araucaria</i>	19		(no) ³	Axial	No	No	Hudgins et al. (2004)
<i>Agathis</i>	21		No?	No?	No	No?	Penhallow (1907)
<i>Wollemia</i>	1		No?	No?	No	No?	Heady et al. (2002)
<i>Keteleeria</i> +17-18 genera	105 >65		No	No	No	No	Hudgins et al. (2004)
<i>Thuja</i>	5		Cells	No?	Cells?	No?	Hudgins et al. (2003b)
<i>Chamaecypar</i> <i>is</i>	6		No	Axial	No	No	Yamada et al. (2002)
<i>Sequoia</i>	1		Radial?	No	No	Axial	Hudgins et al. (2004)
<i>Sequoiadendr</i> <i>on</i>			Radial?	No	No	Axial	Hudgins et al. (2004)

<i>Metasequoia</i>	1		Radial?	No	No	Axial	Hudgins et al. (2004)
<i>Cryptomeria</i>	1		No	Axial	No	No	Hudgins et al. (2004)
<i>Cupressus</i> +26 genera	>16 >117		(no) ³	Axial	No	No	Hudgins et al. (2004)
<i>Torreya</i> +2 genera	5-6 16		No	No	No	No	Penhallow (1907)
<i>Taxus</i> +2 genera	9 2		No	No	No	No	Hudgins et al. (2003a)

قنوات الراتنج مبطن بخلايا طلائية غنية بالبلاستييد التي تنتج وتفرز الراتنج في التجويف الخلوي الفائق Lumen حيث يخزن تحت ضغط (الشكل ٥-٧ A) . خلايا الراتنج البسيطة تراكم الراتنج داخليا تحت ضغط ويمكن أن تمتد في تراكيب كبيرة نسبياً (الشكل ٥-٦ B) .

شكل (٥-٦) : قطاعات عرضية في التراكيب التي تحتوي الراتنج في الصنوبريات . (A) قناة راتنج موجهة محورياً في منطقة القشرة الخارجية من لحاء شجرة بلسم فير (*Abies*)

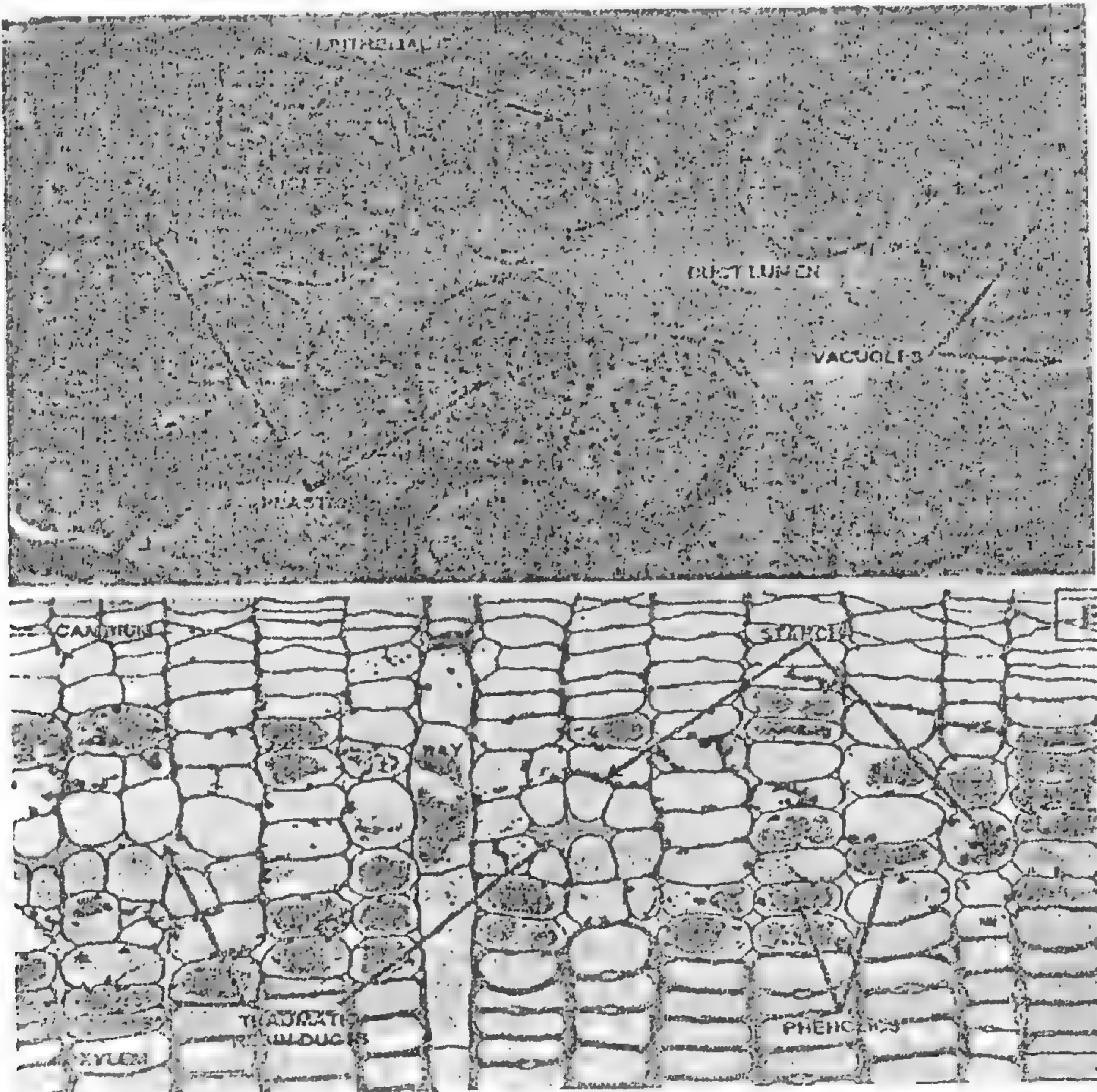


(*balsamea* . الحاجز ٥٠ ميكرومتر . قنوات الراتنج الدائرية في القشرة تبطن بخلايا طلائية صغيرة المحاطة بشريط من الخلايا التي تحتوي على المادة الفينولية . (B) في *Abies grandis* حيث ينتج ويخزن الراتنج في خلايا راتنج فردية في اللحاء الثانوي . الحاجز ٥٠ ميكرومتر . (C) تكبير قليل لقلف والخشب الطري للصنوبر النرويجي

Picea abies يوضح قنوات الراتنج الجرحية داخل الخشب الطرى بعد ٣ أسابيع من الحقن بفطر الصبغة الزرقاء *C.polonica* . قنوات الراتنج الجرحي ترى صغيرة وعلى شكل قنوات موجهة محورياً قريبة من الكامبيوم . (D) نظرة قريبة عند قنوات الراتنج الجرحي فى خشب الصنوبر النرويجي بعد حقن الفطر . قنوات الراتنج الجرحي تتميز بارتباطها بالشعاعات القطرية . (E) قطاع عرضي يوضح استمرار التجويف بين قنوات راتنج جرحي ملتحمة وقناة الراتنج القطرية عبر اللحاء والخشب . الحواجز ٥٠ ميكرومتر .

قنوات الراتنج تكون انغلاق *Schizogenously* حيث تسحب الخلايا الطلائية جزئياً خلال تكوين قناة الراتنج (Nagy et al ., 2000) . الخلايا الطلائية التي تبطن قنوات الراتنج القطرية والمحورية ذات جدر رقيقة وتعيش طويلاً على عكس الخلايا الطلائية لتجاويف الراتنج التي تعيش قصيراً وتصبح ملجننة بالتدريج خلال التطور (Bennan ,1974 , Faha ,1963 .

شكل (٥-٧) : قطاعات عرضية فى الخلايا الطلائية لقنوات الراتنج الجرحية النامية .



(A) فى الصنوبر النرويجى حيث الخلايا الطلائية تبطن قناة الراتنج وتتميز بسيتوبلازم كثيف مع العديد من البلاستيدات والفجوات ونواة متضخمة . البلاستيدات العديدة تمثل الموقع الأولى لتخليق الراتنج . الحاجز ١٠ ميكرومتر . (B) قنوات الراتنج الجرحية فى بداية تطورها تكون محاطة بخلايا برانشيمية حية مملوءة بحبيبات النشا ومادة الفينول .

٣-٢- تشريحية وتطور قنوات الراتنج الجرحية

بالإضافة إلى تراكيب الراتنج التكوينية فإن العديد من الصنوبريات تطور تراكيب راتنج محفزة استجابة للتحديات الحيوية واللا حيوية مثل هجوم الحشرات والعدوى بمسببات الأمراض والتلف من الصقيع أو الجروح الطبيعية , (Kyto et al., 1996) (Alfaro , 1995) . فى عائلة Pinaceae فإن تراكيب الراتنج المحفزة تحدث عادة تحت ما يسمى بقنوات الراتنج المحورية الجرحية أو المرضية فى الخشب ولكن قنوات الراتنج المحورية تحفز كذلك فى لحاء القليل من الصنوبريات غير عائلة Pinaceae (جدول ٥-١) . طبيعة الكامبيوم الوعائى تشير إلى أن قنوات الراتنج المحفزة يجب أن تكون محورية وليست قطرية . الكامبيوم يستطيع إعادة البرمجة وبسرعة لإنتاج قنوات الراتنج المحورية العاملة التى تكون بطول عدة أمتار بينما نحتاج لسنوات لإنتاج القنوات القطرية بأى درجة .

قنوات الراتنج الجرحية (TRD's) تتكون فى صورة حزم محيطية من خشب العديد من أنواع عائلة صنوبريات Pinaceae (أشكال ٥-٤ B و ٥-٥ D) . هذه الحزم تحاط فى الغالب بواسطة تراكيدات صغيرة ذات جدر خلوية سمكية وتكون مرئية للعين العادية كخط مشقوق داخل الحلقة السنوية (حلقات سنوية كاذبة - الشكل ٥-٦ C) . تكوين TRD's الفاعلة مع النشاط الإفرازى يحدث بسرعة ويتطلب من ٢ - ٤ أسابيع فى الصنوبر النرويجى TRD's تتكون بنفس الطرق كقنوات راتنج محورية عادية بواسطة الانغلاق بين الخلايا الطلائية البائدة عندما تكون هذه الخلايا مازالت قريبة من منطقة الكامبيوم (الشكل ٥-٧ B) . فى بعض الأحيان تنتج قنوات راتنج كبيرة عرضية بواسطة الالتحام Anastomosis المحيطى للقنوات المجاورة (Gerry , 1942 - الشكل ٥-٦ E) . إذا كان المنشط المحفز قوى تنتج TRD's محيطية كاملة ومع الوقت قد تمتد هذه القنوات لعدة أمتار من نقطة التحفيز فى الصنوبر . فى الأجناس الأخرى مثل Cedrus , Tsuga , Abies وكذلك Pseudolarix تتكون TRD's فى منطقة الجروح (Wu and Hu , 1997) .

نظام قنوات الراتنج الجرحية TRD قد تمثل حجم ذو اعتبار وتساهم بدرجة معنوية فى الإنتاج الشامل لراتنج الشجرة . بعد التحفيز المكثف تكون TRD's أكثر وفرة عن قنوات الخشب العادية وقد تمتد حتى ٥٠ - ١٠٠% من محيط الخشب فى الصنوبر النرويجى . كذلك يكون TRD's أكثر فى الكبر عن قنوات الخشب التكوينية وكمثال فإنها فى الصنوبر النرويجى تكون أكثر عرضاً بمقدار مرتان وتمثل حجم أربعة أمثال أكبر لكل وحدة طول فى القناة . TRD's يكون شبكة مرتبطة داخلياً من الفجوات المملوءة بالراتنج محيطياً فى الخشب الطرى الجديد وكذلك قطرياً مع تجاوزيف مستمرة بين قنوات TRD's المجاورة وقنوات الراتنج التكوينية القطرية (الشكل ٥-٦ E) . هذا التنظيم يسهل انسياب الراتنج محورياً على امتداد الجزع وقطرياً فى اتجاه سطح القلف .

يبدو أن قنوات TRD's تنشأ من الخلايا الأم للخشب . نظام التوزيع الصارم لقنوات TRD's فى الحزم المحيطية تحقق خليط من الترسيب المسبق والنشر المحيطى للمنشط مما يؤدي إلى حدوث تحفيز منسق وتشكيل خلايا الخشب الأم . مع زيادة المسافة من نقطة التحفيز فإن قنوات TRD's تقل فى الحجم والعدد بالتدرج وتوجد بالقرب والقرب من الكامبيوم . لذلك فإنها تبدو فى فترة راحة Lag period فى إنتاج وتشكل TRD's بعيداً عن المنشط الذى يكون متوافقاً مع التأشير التى تحفز موجة التطور المسافرة فى اتجاه المحور عند حوالى ٢,٥ سم لكل يوم . يبدو أن تكوين قناة TRD ينشط خلال مسار الأوكتاديكانويد الذى يتضمن التأشير بالجسمونات والاثيلين .

٣-٣- الأدوار الدفاعية لقنوات TRD's

تكوين TRD فى الصنوبر النرويجى عبارة عن جزء من استجابة الدفاع المعقد الذى يحدث بسرعة وفى تنسيق مما يؤدي إلى تكوين شبكة مفرزة للراتنج بكثافة . النتيجة حدوث تراكم كثيف للراتنج وتحفيز انسياب الراتنج عند موقع الهجوم . الحقن الصناعى أو الجرح يؤدي إلى تكوين TRD وزيادة تخليق الراتنج ومن ثم يمكن أن يستخدم لتحسين وإيداء مقاومة الشجرة ضد الحشرات ومسببات الأمراض . كمثال فإن أشجار الصنوبر النرويجية التى عوملت مسبقاً بعدوى فطرية غير قاتلة طورت قنوات TRD's بوفرة والتى حافظت على الأشجار أكثر مقاومة للعدوى الكثيفة اللاحقة بعد ٣ - ٩ أسابيع . قابلية الشجرة على عملية تكوين الراتنج الجرحية Resinosis يمكن أن تستخدم للكشف عن المقاومة . كمثال فإن الكلونات المقاومة للصنوبر النرويجى والصنوبر الأبيض تنتج قنوات TRD's أكثر وبسرعة أكثر بالمقارنة بالكلونات الحساسة (Tomlin et al., 1998) . فى الصنوبر الأبيض وجد أن قنوات الراتنج الأكبر فى الداخل والسميكة فى

الخارج ترتبط بالمقارنة ضد خنفساء الصنوبر الأبيض (A lfaro et Pissodes strobe al., 2004).

يوجد أدلة وفيرة بأن راتنج أشجار الصنوبر فعال في الدفاع ضد الحشرات . فى العديد من الصنوبريات يتم تحفيز التربينات الأحادية فى الأنسجة التى تهاجم بواسطة خنافس القلب والفطر ذات الصبغة الزرقاء المرتبط بها . لقد وجد الباحث Tomlin et al., (2000) أن محاكاة الضرر الذى تحدثه سوسة الصنوبر الأبيض حفز النسبة بين المونوتربينات وحمض الراتنج فى مناطق الساق بعيداً من موقع الجرح فى الأشجار المقاومة ولكنها كانت قليلة فى الأشجار الحساسة . الراتنج الغنى بالمونوتربينات الأقل لزوجة عن الراتنج التكويني ويحتمل أن تنساب بشكل أكثر سهولة فى تجاويف وضع البيض وفى أنفاق اليرقات ولذلك يكون أكثر فاعلية فى تثبيط / قتل السوس غير الناضج . الراتنج قد يثبط كذلك غزو الحشرات ونمو الميسيليوم فى الممرضات الفطرية بسبب صفاتها السامة . كمثال وجد Klegzig et al., (1915) أن التربينات الأحادية فى راتنج الصنوبر الأحمر يثبط إنبات الفطر ونمو الميسيليوم وكذلك أنفاق الخنافس . الألفا - بينين على وجه الخصوص هو المونوتربينات الأكثر وفرة فى لحاء الصنوبر الأحمر مما يحقق نشاط حيوى قوى تجاه الحشرات والفطريات .

دائى تربينات الراتنج تعتبر ذات تأثيرات أبادية على الحشرات والفطريات وهى مهمة فى إغلاق الجروح . الجرح المفتوح من المسارات المؤثرة فى العدوى لهجوم الحشرات والفطريات الممرضة وأن القفل الفعال للجرح حاسم فى منع الغزوات . حامض أبييتيك دايتربين هام فى البلمرة التأكسدية للراتنج وحامض ديهيدروأبييتيك للزوجة الراتنج والبلورة . أشجار الصنوبر الأبيض المقاومة يبدو أنها تنتج تربينات متطايرة أكثر وأحماض راتنجية دايتربينات فى منطقة الجروح عما هو الحال مع الأشجار الحساسة .

تحفيز قنوات TRD's الفعال فى العادة يكون بطيء جداً لتحقيق الفاعلية ضد الهجوم المكثف السريع بواسطة خنافس القلب والتى قد تكتمل خلال أيام قليلة (Paine et al., 1997) . هذا ولو أن تكوين TRD قد تساهم فى تحقيق الدفاع عندما تكون مهاجمة خنفساء القلب تبطيء بواسطة الظروف المناخية غير الملائمة وقد تكون هامة كذلك فى حماية الأشجار ضد مسببى الجروح بعد التلف الميكانيكى للقلب كمثال .

References

Alfaro RJ (1995) An induced defense reaction in white spruce to attack by the white-pine weevil, *Pissodes strobe*. Can J For Res 25:1725-1730

- Bannan MW (1936) Vertical resin ducts in the secondary wood of the abietineae. *New Phytol* 35:11-46
- Brignolas F, Lieutier F, Sauvard D, Christiansen E, Berryman AA (1998) Phenolic predictors for Norway spruce resistance to the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) and an associated fungus, *Ceratocystis polonica*. *Can J For Res* 28:720-728
- Charon J, Launay J, Carde J-P (1987) Spatial organization and volume density of leucoplasts in pine secretory cells. *Protoplasma* 138:45-53
- Cook SP, Hain FP (1988) Toxicity of host monoterpenes to *Dendroctonus frontalis* and *Ips calligraphus* (Coleoptera: Scolytidae). *J Entomol Sci* 23:287-292
- Dixon RA, Paiva NL (1995) Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7:1085-1097
- Erbilgin N, Kroken P, Christiansen E, Zeneli G, Gershenzon J (2006) Exogenous application of methyl jasmonate elicits defenses in Norway spruce (*Picea abies*) and reduces host colonization by the bark beetle *Ips typographus*. *Oecologia* 148:426-436
- Fahn A (1990) Plant anatomy. Pergamon Press, Oxford
- Franceschi VR, Krokene P, Krekling T, Christiansen E (2000) Phloem parenchyma cells are involved in local and distant defense responses to fungal inoculation or bark beetle attack in Norway spruce (Pinaceae). *Am J Bot* 87:314-326
- Gijzen M, Lewinsohn E, Savage TJ, Croteau RB (1993) Conifer monoterpenes – biochemistry and bark beetle chemical ecology. *ACS Symp. Ser.* 525:8-22
- Heady RD, Banks JG, Evans PD (2002) Wood anatomy of wollemi pine (*Wollemia nobilis*, Araucariaceae). *IAWA Journal* 23:339-357
- Hudgins JW, Franceschi VR (2004) Methyl jasmonate-induced ethylene production is responsible for conifer phloem defense responses and reprogramming of stem cambial zone for traumatic resin duct formation. *Plant Physiol* 13:2134-2149
- Johnson MA, Croteau R (1987) Biochemistry of conifer resistance to bark beetles and their fungal symbionts. In: Fuller G, Nes WD (eds) *Ecology and metabolism of plant lipids*. American Chemical Society, Washington DC, pp 76-92

- Kartuch B, Karuch R, Weilgong P (1991) Site-specific differences in calcium oxalate content of the secondary phloem of spruce (*Picea abies* Karst). *Flora* 185:377-384
- Kyto M, Niemela P, Annila E (1996) Vitality and bark beetle resistance of fertilized Norway spruce . *for Ecol Manag* 84 : 149 – 157
- Li SH , Schneider B , Gershenzon J (2007) . Microchemical analysis of saaser – microdissected stone cells of Norway spruce by cryogenic nuclear magnetic resonance spectroscopy . *Planta* 225 : 771 – 779
- Martin D , Tholl D , Gershenzon J , Bohlmann J (2002) Methyl jasmonate induces traumatic resin ducts , terpenoid resin biosynthesis , and terpenoid accumulation in developing xylem of Norway spruce stems . *Plant physiol* 129 : 1003 – 1018
- Nagy NE , Krokene P, Solheim H (2006) Anatomical – based defense responses of Scots pine (*Pinus sylvestris*) stems to two fungal pathogens . *Tree physiol* 26 : 159 – 167
- Ohtsu K, Takahashi H, Schnable PS , Nakazono M (2007) Cell type – specific gene expression profiling in plants by using a combination of laser microdissection and high – throughput technologies . *plant cell physiol* 48 : 3 – 7
- Paine TD , Raffa KF , Harrington TC (1997) Interactions among scolytid bark beetles , their associated fungi , and live host conifers . *Ann Rev Entomol* 42 : 179 – 206
- Philips MA , Croteau RB (1999) Resin – based defense in conifers . *Trends plant Sci* 4 : 184 – 190
- Raffa KF , Berryman AA (1983) , Physiological aspects of lodgepole pine wound responses to a fungal symbiont of the mountain pine beetle , *Dendroctonus ponderosae* (Coleoptera ; Scolytidae) . *Can Entomol* 115 : 723 – 734
- Ruel JJ , Ayres MP , Lorio PL (1998) Loblolly pine responds to mechanical wounding with increased resin flow . *Can J for Res* 28 : 596 – 602
- Shain L (1967) Resistance of sapwood in stems of loblolly pine to infection by *Fomes annosus* . *phytopathology* 57 : 1034 – 1045
- Shrimpton DM , Whitney HS (1968) Inhibition of growth of blue stain fungi by wood extractives . *Can J Bot* 46 : 757 – 761

- Tomlin ES , Alfaro RI , Borden JH , He FL (1998) Histological response of resistant and susceptible white spruce to simulated white pine weevil damage . Tree physiol 18 : 21 – 28
- Virri H , Annala E , Kitunen V , Niemela P (2001) Induced responses in stilbenes and terpenes in fertilized Norway spruce after inoculation with blue – stain fungus , *Ceratocystis polonica* . Trees 15 : 112 – 122
- Werker E , Fahn A (1969) Resin ducts of *Pinus halepensis* Mill . – their structure , development and pattern of arrangement . Bot J Linn Soc 62 : 379 – 411
- Zeneli G , Krokene P , Christiansen E , Krekling T , Gershenzon J (2006) Methyl jasmonate treatment of large Norway spruce (*Picea abies*) trees increases the accumulation of terpenoid resin components and protects against infection by *Ceratocystis polonica* , a bark beetle – associated fungus / Tree physiol 26 : 977 - 988

الباب السادس

إنتاج نواتج التمثيل الثانوية " التربينويدز والفينيل بروبانويد " للدفاع ضد الحشرات والجروح فى أشجار الصنوبر

أولاً : دفاعات التربينويدز المحفزة فى أشجار الصنوبر

الصنوبريات تنتج سلسلة من التربينويدز المختلفة تصل عددها بالمئات كجزء من الوسائل الدفاعية المعقدة من الصفات الكيميائية والطبيعية والايكولوجية ضد الآفات الحشرية والممرضات النباتية فى الصنوبريات . كان يظن أن تنوع كيميائيات التربينويدز تعمل كغطاء كيميائى فى طبقات متعددة فى أشجار الصنوبريات التى تعيش طويلاً والتى تحقق حماية طويلة المدى ضد الآفات الحشرية الأكثر سرعة والممرضات النباتية . تكوين دفاعات التربينويدز فى الصنوبريات تتضمن نشاط مسارين الأول هو مسار الميثيل ارثيريتول فوسفات ومسار الميكالونات التى تقود إلى التخليق الحيوى لبادئات التربينودز ذات الخمسة ذرات كربون . العديد من المونوترربينويدز ، سيسكويترربينويدز ، أحماض الرانتج ثنائية التربينات والتى توجد فى مخاليط الأوليو راتنجات وهى تتكون حينئذ من عائلات الإنزيمات التى تنتمى لأقسام برينيل ترانسفيريس ، تربينويدسينسيزيس والمونواكسجينزيس المعتمدة على السيتوكروم بى - ٤٥٠ . الجينات اللازمة لجميع الخطوات الإنزيمية فى التخليق الحيوى لأوليو راتنج التربينويدز تم تعريفه فى أنواع الصنوبريات والتى اتفق على اعتبارها نظام صنوبرى مرجعى لدراسات الدفاعات التكوينية والمحفزة بالتربينويدز باستخدام الاقترابات البيوكيميائية والوراثة الجزيئية والجينومين والبروتيوميك . عند المستويات النسيجية والخلوية فإن تربينويدز الاوليو راتنج ينتج ويتراكم تركيبياً فى كميات كبيرة فى التراكيب التشريحية الخاصة التى توجد فى معظم الأعضاء والأنسجة . فى العديد من أنواع الصنوبر فإن التخليق الحيوى وتراكم التربينويدز تحفز بعد ذلك كجزء من الدفاع المحفز استجابة لهجوم الحشرات والفطريات .

J. Bohlmann

Michael Smith Laboratories , University of British Columbia ,
Vancouver , B.C., Canada .

e-mail : bohlmann@msl.ubc.ca

١ - مقدمة

الصنوبريات (مثل أفراد العائلة Pinaceae) تتضمن بعض الكائنات التي تعمّر طويلاً والأطول على سطح الأرض . التركيب الطبيعي في الطول وامتداد فترة الحياة لهذه الأحياء جعلتها من الأهداف الدائمة مكانياً وزمانياً للعديد من آكلات النباتات المؤثرة والممرضات النباتية . الدفاع والمقاومة الناجحة للصنوبريات ضد معظم آكلات النباتات والممرضات يمكن تفسيرها ولو جزئياً بواسطة تكوين سلاسل متنوعة من المونوترپينويدز ، سيسكويترپينويدز وحمض الراتنج ثنائي التربين وجميعها كيميائيات دفاعية . هذه الكيمائيات تتراكم بكميات كبيرة في صورة مخاليط سابقة التكوين أو محفزة من الأوليوراتنج . بعض التربينويدز خاصة المونوترپينات والسيسكويترپينات يمكن أن تتبعث بنشاط كمركبات عضوية متطايرة وتعمل وظيفياً ككيميائيات للإشارة Semiochemicals من أشواك الصنوبريات . الراتنج الزيتي للصنوبر يخزن في تراكيب تشريحية خاصة مثل قنوات الراتنج وثمرات الراتنج أو خلايا الراتنج في السوق والجذور والأشواك . برامج تطور التكوين التركيبي لهذه التراكيب الخاصة التي تتراكم الراتنج غير مفهومة فيما عدا أنه في الوقت الراهن من أن تكوين ما يطلق عليه قنوات الراتنج الجرحية تحفز في منطقة الكامبيوم لسوق الصنوبريات استجابة لهجوم الحشرات أو الفطريات أو بواسطة الجروح الميكانيكية أو بواسطة التحفيز الكيميائي بالمثل جسمونات (Me JA أو المعاملة بالاثيلين . في السنوات الحديثة تم نشر العديد من الدراسات المرجعية تحت عنوان دفاعات الراتنج الزيتي التربينويد في الصنوبريات .

(e.g. Bohlmann and Croteau 1999 ; Phillips and Croteau 1999 ; Trapp and Croteau 2001 a ; Keeling and Bohlmann 2006 a , b) .

عائلات إنزيمات تربينويد سينسيزيس (TPS) والمونواكسيجينيزيس المعتمدة على سيتوكروم بي ٤٥٠ تلعب دوراً محورياً في تكوين تنوع كيمياء التربينويد ولمرونة الطرز الفينولوجية في دفاعات الصنوبر . كلا TPS , P 450 تشفر في العائلات متعددة الجينات في الصنوبريات . عائلات الجينات هذه يعتقد أنها تساهم في المستويات الجينومية والجزئية والبيوكيميائية وتساهم أكثر في تنوع ومرونة دفاعات التربينويدز التكوينية والمحفزة في الصنوبريات التي تعيش طويلاً . على عكس TPS و P 450 لا يعرف إلا القليل حول الخطوات المبكرة للتخليق الحيوي للتربينويدز في الصنوبريات مع قليل من الدراسات المنشورة عن البرينيل ترانسفيريزيس (PT في Tholl et al. 2001) أو الخطوات المبكرة في التخليق الحيوي لايزوبرينويد الصنوبر (Phillips et al., 2007) . هذا ولو أن مشروع جينوم الصنوبر عرف الجينات (مثل EST's , DNA's ...) لكل خطوة منفردة في مونوترپينويدز الصنوبر ، سيسكويترپينويدز والدايتربينويدز في منظومة التخليق الحيوي لها (Ralph et al., 2006) .

استمراراً وتعظيماً للعمل الرائد الذي أجرى بواسطة (Bud) Clearanee Ryan ومعاونوه فإن استخدام المثيل جسمونات Me JA كمادة محفزة للدفاعات النباتية مكنت العلماء والباحثين من تطور توصيف تفصيلي لدفاعات التربينويدز المحفزة في العديد من أنواع الصنوبريات مثل الصنوبر النرويجي *Picea abies* وصنوبر سيبتيكا (*P. sitchensis*) والصنوبر الأبيض (*P. glauca*) ... وغيرها . مع معاملة بإدرات الصنوبر والأشجار الناضجة أو حتى المزارع الخلوية بالمثيل جسمونات أصبح في الإمكان القياس الدقيق للتغيرات الكمية والوصفية للتربينويدز الناتج الجرحي والكشف عن ديناميكيات الأنشطة الإنزيمية ومستويات النسخ المحفزة في الاستجابة الدفاعية للتربينويد الجرحي وتحليل الانبعاث المحفز والنشط للمواد المتطايرة للتربينويدز . بالإضافة إلى ذلك فإن المعاملة غير الغزوية بالمثيل جسمونات على عكس الجروح الميكانيكية أو الهجوم بالحشرات تسمح بالتحليل المكاني والزمني لتشكل الخلية خلال تكوين الناتج الجرحي في منطقة الكامبيوم لسيقان شجرة الصنوبر . استخدام المثيل جسمونات تقدم وسيلة قوية لمحاكاة بعض تأثيرات تغذية الحشرة في الصنوبر على الأقل كما ظهر في استجابة صنوبر ستيكا لسوسة الصنوبر الأبيض . فيما وراء استخدام المثيل جسمونات كمحفز خارجي فإن كلا تأثير الاثيلين والأوكتاديكانويد يبدو أنها تشترك في التأثير الداخلي لاستجابة الناتج الجرحي المحفز في الصنوبر .

المثيل جسمونات أو تراكم التربينويدز المحفز بهجوم الحشرة في قنوات الناتج الجرحي في السيقان والجذور وكذلك في الانبعاثات المحفزة للتربينويدز المتطايرة من الأشواك يتحكم فيها على الأقل في جزء منها بواسطة تنظيم التخليق الحيوي للتربينويدز (Martin et al., 2002) . في هذه العملية فإن مستويات النسخ و / أو الأنشطة الإنزيمية لخطوات عديدة في تكوين التربينويدز وهي تنظم في مسارات المثيل ارثيريتول فوسفات (MEP) وفي الخطوات المتتابعة برينيل ترانسفيريز وفي الخطوات الأخيرة التي تحفز بواسطة TPS , P450 . تحليل أكثر من ٢٠٠ ألف EST's الصنوبر و ٦٤٦٤ FLc DNAs نهائي عالي الجودة على امتداد النسخ ترانس كربتوم وتحليل البروتيوم أمكن تعريف العديد من العمليات التي تحدث في الحشرات الأخرى وتنظم بواسطة Me JA في الدفاع الكيميائي المحفز والمقاومة في صنوبر سيبتيكا ضد سوسة الصنوبر الأبيض وديدان براعم الصنوبر (Ralph et al., 2006) .

٢ - كيمياء التخليق الحيوي للتربينويدز في دفاعات الصنوبريات

التقدم في بحوث الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الجزيئية للتربينويدز في دفاعات الصنوبريات تم نشره مرجعياً في السنوات الحديثة والعديد من الدراسات المرجعية عن هذا الموضوع متاحة (Bohlmann and Croteau , 1999) . التربينويدز يمثل المجموعة الأكبر لناتج التمثيل الثانوية المعروفة . الأقسام الثلاثة الكبيرة للمونوترربينويدز والسيكوتربينويدز والداي تربين لأحماض الراتنج من أكثر كيميائيات دفاع المتوفرة من التربينويدز في الصنوبريات . بوجه خاص فإن أحماض الراتنج المونوتربينودية ومن الداى تربينات تكون معظم حجم الراتنج الزيتي في الصنوبر . بالإضافة إلى ذلك فإن السييكوتربينويدز تساهم لحد كبير في التنوع في تركيب الكيمائيات في مخلوط الراتنج الزيتي . التخليق الحيوي للمونوتربينويدز والسيكوتربينويدز والداي تربينات لأحماض الراتنج تبدأ مع وحدات البناء ذات الخمسة ذرات الكربون وهي أيزوبنتيل داى فوسفات (IDP) ومثابهة دايمثيل الليل داى فوسفات (DMAPP) في النباتات يوجد مساران لتكوين هذه البادئات وهما مسار حامض ميكالونيك (MEV) ومسار (MEP) . بناء على تتابع التوسع الكبير DNA , FL , EST , الجميع ولكن جين واحد لمسارات MEV and MEP يتم كلونتهم من الصنوبر ستيكا و / أو الصنوبر الأبيض (Relph et al., 2006) . المجهودات الجينومية هذه في صنوبر ستيكا والصنوبر الأبيض بواسطة امتداد أو توسع اكتشاف الجين لأنواع الصنوبر الأخرى أدت إلى تعريف والتوصيف الوظيفي لعائلة صغيرة من الجينات المتباينة المحفزة بالمثل جسمونات والإصابة الفطرية للخطوة الأولى في مسار MEP وإنزيم ديوكسى زيليلوز فوسفات سينسيز أو (DXPS) في الصنوبر النرويجي (Phillips et al., 2007) . بناء على الدراسات التي أجريت على الصنوبر النرويجي DXPS في مزارع معلقات الخلايا أتضح أن الصور المشابهة المختلفة Soforms قد يكون لها وظائف خاصة في تنظيم تدفق الوسيط في تمثيل الايزوبرينويد الأولى وتمثيل دفاع التربينويد الثانوى . يستتبع تكوين IDP , DMAPP تفاعلات تكثيف ١ - ٤ للمحفز PTS مندمجاً مع البرينيل داى فوسفات الأليلي . بوجه خاص فإن إنزيم جيرانييل داى فوسفات (GDP) سينسيز يكون بادىء المونوترربينويدز ذات العشرة ذرات الكربون ، وإنزيم فارنيسيل داى فوسفات (FDP) سينسيز يكون بادىء مجموعة السيكيوتربينويدز ذات الخمسة عشرة ذرة كربون بينما إنزيم جيرانييل داى فوسفات (GGDP) سينسيز ينتج البادىء ذات العشرين ذرة الكربون للداي تربينويدز . لقد تم توصيف قليل من PT's الصنوبر في الصنوبر grand (Tholl et al., 2009) fir وحديثاً في الصنوبر النرويجي وعدد كبير من PT's مع EST , DNA's F1 في صنوبر ستيكا والصنوبر الأبيض . هذا ولو أنه يعتقد أن التخليق الحيوي للسيكوتربينويدز والدايتربينويدز قد يتحكم في تدفق مسار المواد الوسيطة عند نقط تفرع

التخليق الحيوي للمونوترينويدز والسيكوتربينويدز والدائى تربينويدز فى الدفاع المحفز فى الصليبيات فيما عدا قليل من الدراسات التى تحدد تنظيم بعض الأنشطة ومستويات النسخ . تنظيم التخليق الحيوي للتربينويدز مازال غير مفهوم وفى حاجة لمزيد من الدراسات والتوصيف .

إنزيمات تربيدنويد سينسيزيس (TPS) تستخدم الثلاثة برينيل داي فوسفات GDP , FDP , GGDP كموا د وسيطة Substrates فى تكوين مئات من التراكيب المتنوعة للمونوترينويدز والسيكوتربينويدز والدائى تربينويدز . إنزيمات TPS توجد فى عائلات الجينات الكبيرة والتى تثير الجدل حول أفضل الجينات الموصفة وإنزيمات الدفاعات الكيميائية فى الصنوبريات (Martin et al., 2004) . الكثير من العمل على إنزيمات TPS فى دفاع الصنوبر المحفز يبنى على الدراسات المبكرة والرائدة بواسطة Rodney Crotean ومعانوه فى جامعة ولاية واشنطن . إنزيمات TPS تستخدم ميكانيكية تفاعل محب للالكترونات يساعد بواسطة العوامل المساعدة من أيونات المعدن ثنائى التكافؤ (Davis and Crotean , 2000) . المواد الوسيطة برينيل داي فوسفات تتأين أو تكتسب بروتونات بواسطة TPS لإنتاج مواد وسيطة من الكربونية النشيطة Carbocation . وسائط الكربونية يعاد ترتيبها فى نطاق التحديدات المكانية لموقع إنزيم TPS النشط وتخدم بقوة لإنتاج العديد من منتجات التربينويدز الحلقية واللا حلقية (Sterks et al., 1997) . بينما بعض إنزيمات TPS تكون منتج منفرد واحد فقط فإن غالبية إنزيمات TDS الموصفة حتى الآن تتضمن العديد من TPS التى عرفت فى الصنوبريات وتنتج سلاسل من المنتجات المتعددة من وسيط منفرد (Stelle et al., 1998) . بناء على مواصفات الوسائط الخاصة بها فإن TPS للمنتج المنفرد والعديد تقسم فى مجاميع وفى أقسام مونو - TPS ، سيكويو TPS ، والدائى - TPS وهى مسئولة عن تكوين هياكل التربين البسيطة (لا حلقية أو تركيب حلقى منفرد) وهياكل تربينية أكثر تعقيداً (تراكيب من حلقتين أو أكثر) للمونو ، السيكيو ، الدائى تربينويدز فى الصنوبريات . العديد من إنزيمات TPS فى الصنوبر المعروفة يبدو أنها تحقق مكافحة تفوق ما تحقق منتجات الكيمياء الفراغية وفى العادة يسود مشابه Enantiomer أى بروفيل لمنتج الإنزيم TPS . فى الوقت الراهن تم كلونة ما يقارب ٥٠ من الصنوبريات المختلفة فى الصنوبر النرويجى وتم تعريفها وظيفياً ونفس الشيء فى صنوبر سياتكا والصنوبر الأبيض (Keeling et al., 2006 a , Faldt et al. 2003) . بالإضافة إلى ذلك فإنه تم كلونة إنزيم TPS وتم توصيفه من الصنوبر الكبير (Stofer vogel et al., 1996) .

بينما غالبية منتجات التربينويدز التي تتكون بواسطة مونو - TPS وسيسكيو - TPS تتراكم في الراتنج الزيتي Oleoresin بدون أية تحويلات بيوكيميائية ظاهرة ولاحقة فإن أوليفينات الداي تربين التي تنتج بواسطة TPS - di قد تتعرض للأكسدة التي تساعد وتحفز بواسطة P450's . الآن عرف أن واحد فقط من إنزيم P450 المشترك في تكوين أحماض الراتنج ثنائية التربين تكون وتوصف وظيفياً (Ro et al.2005) إنزيم Pt 450 AOP في الصنوبر الكثيف وايتادينول / أبيتا دينال أوكسيديز ما هي إلا داي تربين أكسيديز متعدد الوسائط ومتعدد الوظائف في عائلة Cyp 720 لإنزيمات P450 النباتية . pt AO يحفز ويساعد خطوتان أو ثلاثة على الأقل من الأكسدة المتتالية في تكوين أحماض الراتنج ثنائية التربينات في الصنوبر والإنزيم يستخدم بكفاءة العديد من كحولات الداي تربين والدهيدات الداي تربينات المختلفة كمواد وسيطة . من خلال دمج وسائط الداي تربينات المتعددة المقبولة وبواسطة تحفيز اثنين على الأقل من خطوات الأكسدة المتتالية فإن إنزيم P450 هذا يؤدي إلى تكوين العديد من أحماض راتنج الداي تربينات المختلفة التي توجد في الراتنج الزيتي لأشجار الصنوبر .

اعتماداً على المعلومات المتاحة في الوقت الراهن فإن التخليق الحيوي للتربينويدز في الصنوبريات يتضمن العديد من المكونات تحت الخلوية . إنزيمات مسار MEV يعتقد أنها تقع في السيتوسول والشبكة الاندوبلازمية بينما مسار MEP يقع في البلاستيدات . بينما GDP , GGDP سينسيزيس يعتقد أنها تقع في البلاستيدات فإن FDP سينسيز تقع في السيتوسول ومن الممكن أن يقع في الميتوكوندريا . بناء على وجود أو غياب البيبتيدات العبورية فإن المونو - Tps والداي - Tps توجد كذلك في البلاستيدات بينما سيسكيو - Tps يبدو أنه سيتوسولي . في النهاية فإن إنزيم AOP450 Pt يرتبط بالشبكة الاندوبلازمية (Ro et al. 2005) . لقد تم استنتاج أن إنزيمات تكوين الراتنج الزيتي التربينويدز توجد سائدة في الخلايا الطلائية الخاصة التي تبطن سطح قنوات الراتنج أو بثرات الراتنج . لذلك فإن تضمين العديد من المكونات الخلوية في التخليق الحيوي لتربينويدز الراتنج الزيتي وإمكانية ارتباط التخليق الحيوي للتربينويدز في خلايا خاصة وكذلك سيسكوستيرية الكثيفة وتراكم تربينويدز الراتنج الزيتي في فراغ الخلايا الخارجية لقنوات الراتنج أو بثرات الراتنج أكدت على وجود نظم نقل فعالة خاصة للوسائط والمنتجات النهائية للتخليق الحيوي للتربينويدز . نظم النقل هذه يبدو أنها ضرورية لنقل كميات كبيرة من التربينويدز المحبة للدهون ضد تدرجات في التركيز وعبر الأغشية الخلوية وجدار الخلية في مواقع التخزين خارج الخلايا ذات التراكم التشريحية الخاصة .

٣- نشوء عائلات جين إنزيمات TPS , P450 لدفاع التربينويدز

كلونة وتوصيف دستات عديدة من إنزيمات تربينويدز سينسيزيس TPS من العديد من أنواع الصنوبر بما فيها الصنوبر النرويجي وصنوبر سيتكا والصنوبر الكثيف والكبير وصنوبر دوجلاس تمكن من إعادة تكوين أو بناء النشوء الوراثي Phylogenetic لعائلة إنزيمات TPS عاريات البذور ومن ثم تحجب بعض الضوء عن نشوء عائلة TPS الأكبر في النباتات بوجه عام . بناء على علاقات التتابع الشامل للبروتين والتشابه في التركيب الجيني وميكانيكيات التحفيز فإنه يعتقد أن جميع إنزيمات TPS النباتية نشأت من سلف شائع Ancetor الذي ترتبط عن قرب بإنزيمات TPS ثنائية التربين المعروفة وحديثاً تم توصيف الإنزيم مزدوج الوظيفة Ent - كوارين سينسيز من الطحالب أو الأشعة Physcamitrella patans (Martin et al. 2004) . من الممكن أن إنزيم TPS السلفي كان مشتركاً في التخليق الحيوي لبادئ حمض الجبريلليك والكوباليل داي فوسفات و ent - كوارين . نشوء عائلة كبرى من إنزيمات Tps النباتية كما نعرفها الآن قد حدثت بوضوح ولحد كبير بشكل مستقل في خطوط كاسيات وعاريات البذور متضمنة حوادث عديدة من تضاعف الجين والتخصص الوظيفي المتتابع كما هو الحال في حدوث وظيفي جديد وأدنى وظيفياً .

بناء على التشابه في تتابع الحمض الأميني فإن عائلة إنزيم TPS يمكن تقسيمها في سبع تحت عائلات توصف من TPS-a وحتى TPS - (Bohlmann et al., 1998a) 9 . إنزيمات المونو - TPS والسيكيو - TPS والدائ TPS تتعقد بشكل منفصل من إنزيم TPS لكاسيات البذور إلى تحت عائلة d - TPS والتي تقسم لاحقاً في المجاميع TPS - de (في الغالب مونو - TPS) ، TPS - d2 (في الغالب سيكيو - TPS) ، TPS - d3 (في الغالب Tps - di ... والجميع تحتوي على ٢٠ حمض أميني سلفي) . تحليل النشوء الوراثي وتركيب الجين يضع TPS - di للصنوبر أقرب لإنزيم TPS النباتي السلفي .

إنزيم TPS للتمثيل الثانوي للصنوبر يعتقد أنها تنشأ من TPS المشترك في التمثيل الأولى . في نشوء TPS في الصنوبر في التمثيل الثانوي للتربينويدز تحدث امتداد واسع لعائلات الجين وتنوع الوظائف البيوكيميائية (Martin et al., 2004) . نفس الوضع يحدث له في حالة P450 . على العكس التمثيل الثانوي لإنزيمات TPS , P450 للتربينويدز مع وظائفها المتحورة في مقاومة ودفاعات الصنوبر ضد الحشرات ومسببات الأمراض ومع أفضل المعلومات المتاحة فإن إنزيمات TPS , P450 في تكوين الهورمون النباتي الأولى لحامض الجبريلليك تبدو متحفظة وتعمل قليلاً جداً في أي تشجيع في الصنوبر .

٤ - التخليق الحيوى وتراكم دفاعات التربينويدز تتطلب خلايا خاصة

تتراكم كميات كبيرة من التربينويدز الكارهة للماء فى الراتنج الزيتى التكويني والمحفر (الجرحى) يتطلب تراكم تشريحية خاصة فى سوق وجذور وأوراق ومخاريط الصنوبر. باستثناء وجود تربينويدز السيكيو فى فراغات الخلايا الخارجية لهذه التراكم الخاصة فإن التربينويدز الكارهة للذويان فى الماء تتداخل مع العمليات البيوكيميائية وتكامل الأغشية والتركيب الخلوى فى الخلايا المنتجة للتربينويدز . السييكوتيرنية وتراكم تربينويدز الراتنج الزيتى يمكن أن تتحقق مع تجمعات الراتنج قصيرة العمر أو مع نظم قنوات الراتنج المعقدة طويلة العمر التى توجد بشيوع فى أنواع الصنوبر التى تنتج كميات كبيرة من الراتنج الزيتى . كجزء من مقدرتها على الزيادة الكثيفة للتخليق الحيوى وتراكم دفاعات التربينودز فإن الصنوبريات تطور كذلك قنوات راتنج جرحية إضافية (TRD) عندما تجابه بتحديات هجوم الحشرات أو العدوى بالفطر أو استجابة لمحاكاة هجوم الحشرات التى تحفز بالمعاملة بالمثل جسمونات أو الاثيلين (Nagy et al . 2000 , Alfaro , 1995) . التكوين الجديد لقنوات الراتنج الجرحية TRD تحدث داخل منطقة الكامبيوم والطبقات الخارجية للخشب النامى بسبب التغير الانتقالي فى نشاط الكامبيوم الذى يسبب نشوء الخلايا . الطلائية لقناة الراتنج فى مكان التراكم التى تكون الخشب . استمرارية التجويف بين TRD والقنوات القطرية وقنوات الراتنج فى القلف يكون شبكة من قناة الراتنج ثلاثية الأبعاد قادرة على تحفيز التخليق الحيوى وتراكم وانسياب الراتنج . التكوين المحفر لقنوات TRD يرتبط بزيادة التخليق الحيوى وتراكم تربينويدز الراتنج الزيتى ويتضمن تعبير جينى محفر وأنشطة وإنزيمية للعديد من موانىء TPS ، سييكوى TPS ودائى - TRD ويتضمن كذلك زيادة مستويات النسخ لتكوين أوكتايدكانويد والاثيلين (Miller et al., 2005) . ملامسة قنوات TRD مع خلايا البرانشيمية المصففة قد تمكن من تأثير دفاعات التربينويدز المحفزة بين الخشب والكامبيوم وأنسجة القلف . إذا اخذ فى الاعتبار وفرة مجسات الجين المقابل المتاح من مشاريع EST و FLC DNA's مدمجة مع موضعية المناعة والهجنة فى الداخل وطرق التشريح الدقيق للخلية أو نسيج خاص فإنه يصبح فى الإمكان اختبار المواقع الخاصة للخلية فى النسخ والبروتينات لتكوين التربينويدز التكويني والمحفر وتأثير الدفاع فى الصنوبريات .

٥ - البيولوجيا الجزيئية لدفاعات التربينويدز ضد الحشرة والمثيل جسمونات فى الصنوبريات

استخدام المثيل جسمونات لتحفيز الدفاعات الكيميائية التشريحية فى الصنوبريات ذات أهمية محددة فى توصيف الاستجابات الدفاعية للتربينويدز المحفز بالحشرات فى أنواع الصنوبر . على غرار تأثير الهجوم الفعلى للحشرات أو العدوى بالفطريات فإن المعاملة الخارجية للصنوبريات بالمثيل جسمونات تحفز تطور قنوات TRD وتراكم التربينويدز وكذلك انطلاق التربينويد المتطاير . معاملة الأشجار بالمثيل جسمونات تقدم وسائل عن طريقها يتم تحفيز استجابات الدفاع فى الصنوبريات بدون أية أضرار ميكانيكية على الشجرة . هذا يمثل دور هام ومحدد لكمية دفاعات التربينويدز المحفزة حيث أى ضرر قد يخفض من الكفاءة الحيوية للقلب والكامبيوم أو نسيج الزيلين للاستجابة ولكنه قد يحفز فقد التربينويدز خلال موضع الجرح . بدلاً من ذلك فإن المثيل جسمونات تسمح بتوصيف أنشطة الإنزيم المحفز والتعبير الجينى للتخليق الحيوى للتربينويدز فى السوق وأوراق الصنوبريات ويمكن من التحليل الكيفى والنوعى بالتفصيل فى الأشجار المحفزة والمقارنة. هذا الاقتراب يمكن كذلك من توصيف الانبعاث الفعال للتربينويدز المتطايرة من أشواك صنوبر ستيكا والصنوبر النرويجى (Miller et al., 2005) .

الكلونة والتوصيف الوظيفى لعائلات إنزيمات Tps P450 فى أنواع الصنوبر تقدم مجموعة ابتدائية من المجسات الكمية لتحليل التعبير الجينى لدفاعات المثيل جسمونات أو التربينويدز المحفز بالحشرة (Faldt Ro et al., 2005 , et al., 2003) . إنزيمات تربينويد سينسيزيس لجميع أقسام الكيمائيات الحيوية تم تحفيزها بواسطة تغذية السوس أو المعاملة بالمثيل جسمونات فى سوق صنوبر ستيكا مع بعض الاستجابات الأقوى التى لوحظت فى إنزيمات مونو - Tps ودائى - Tps . فى الصنوبر الكثيف وجد كذلك زيادة كبيرة فى مستويات النسخ المحفز بالمثيل جسمونات لإنزيم داي تربين سينسيز الذى ينتج بادئ الوسيط لـ AO Pt . التعبير الجينى لإنزيم Tps وأنشطة Tps تزداد كذلك فى المجموع الخضرى للصنوبر النرويجى وصنوبر ستيكا بعد التحفيز بالمثيل جسمونات أو هجوم السوس . التعبير الجينى المحفز لإنزيم Tps فى الصنوبر النرويجى وصنوبر ستيكا يرتبط بزيادة أنشطة الإنزيم Tps ومع التراكم المتزايد لتربينويد الراتنج الزيتى فى السوق أو انفراد التربينويدز المتطايرة من الأشواك . حديثاً ومن خلال العمل على صنوبر ستيكا تم وضع خرائط مكثفة عن بروفيل التعبير الجينى المحفز بالسوس لخطوات إضافية للتخليق الحيوى للتربينويدز موضحاً أن إنزيمات Tps , P450 Pt's والقليل من الجينات فى مسارات MEP , MEV هى النسخات الأقوى المنظمة كثيراً فى استجابات الدفاع للتربينويدز المحفز بالسوس فى صنوبر ستيكا . بالإضافة إلى التحليل الدقيق عن مسارح

مع ما يقارب ٢١٨٠٠ من DNA's c في الصنوبر المتبقع تم تعريف آلاف من أنواع النسخ التي تختلف في التعبير استجابة لهجوم الحشرة في صنوبر ستيكا .

٦- تأثيرات تربينويدز الصنوبريات على الحشرات ومسببات الأمراض النباتية المرتبطة بالحشرات

التربينويدز في صورة الراتنجات الزيتية Oleoresins وكذلك الانبعاثات المتطايرة من المكونات المحددة في تداخلات الصنوبر مع الكائنات الأخرى مثل الدفاع والمقاومة ضد الحشرات والممرضات . بوجه عام فإن كيميائيات التربينويدز تستطيع حماية الصنوبر عن طريق عمل حواجز ميكانيكية في صورة زفت أو قار Pitch أو راتنج متبلور عند مواقع الجرح ، أو من خلال السمية ضد الحشرات والممرضات المرتبطة بالحشرات أو إحداث خلل في العمليات الضرورية في بيولوجى الحشرة . بالإضافة إلى ذلك فإنه في نظم الدفاع غير المباشرة فإن تربينويدز الصنوبر قد تعمل كإشارات للمفترسات والطفيليات الخاصة بأكلات النباتات الغازية أو المهاجمة .

الوظائف الخاصة لمركبات التربينويدز كل على حدة في دفاعات أشجار الصنوبر يصعب تحديدها تجريبياً . هذا بينما أن تعقيدات مئات من كيميائيات التربينويدز التي تكون مخاليط الراتنج الزيتى التكويني أو المحفز تميل لتقديم ميزة عن استدامة نظام الدفاع فى الصنوبر في الحالة الثابتة والمرنة حيث أن نفس التعقيدات الكيميائية تقدم تحدى مؤثر وصعب أمام الباحثين للوقوف على أنشطة دفاعية خاصة إجبارياً لمركبات التربينويدز . من الممكن كذلك أن مخلوط التربينويدز قد يكون أكثر فاعلية عن كل مركب منفرد . نقصى الطفرات المناسبة في معظم الصنوبريات والعمليات البطيئة للتحويل الجيني للصنوبريات جعلت من الصعوبة القصوى بوجه عام إحداث المناورة فى بروفيل التربينويدز أو مركبات التربينويدز الفردية لتحقيق الوظائف الدفاعية الخاصة فى الداخل مع الأشجار السليمة . لذلك فإن معظم الاختبارات للكشف عن فاعلية التربينويدز فى الصنوبريات على الحشرات أو الممرضات المرتبطة بالحشرات تعتمد على تعرض الحشرات والممرضات للمركبات المعزولة أو خلائط من هذه المركبات . فى هذه التجارب كمثال فإن مركبات سيسكيوتربينويدز الجوفابيون ، الفرنسيول ، والفارنيسال أحدثت خلل فى تطور ونضج الحشرات عن طريق التداخل مع نظم الغدد الصماء فى الحشرات (Slama et al., 1965) .

نشاط قتل الشجرة لبعض خنافس القلف تتضمن ارتباط هذه الحشرات مع مجتمع الفطريات والبكتريا والبعض منها معروف عنها إحداث المرضية وتساهم مباشرة فى موت الشجرة . لذلك يكون من الأهمية الوقوف على تأثير دفاعات التربينويدز مع هذه

الممرضات كذلك . كمثال فإن أحماض راتنج الرايتربين : حمض أبيتيك وحمض أيزوبيما ريك تثبط بشدة إنبات جراثيم فطر الصبغة الزرقاء *Ophiostoma ips* وهو ممرض للصنوبر يعيش تكافليا مع حفار الصنوبر *IPS pini* أظهرت نفس الدراسة أن حامض الأبيتيك تثبط نمو الميسيليوم للفطر .

هناك اقتربات عديدة يمكن أن تؤخذ في الاعتبار عند إجراء البحوث المستقبلية لاختبار دور التربينويدز المنفردة أو مجاميع التربينويدز في دفاعات الصنوبريات المناورة المستهدفة للتخليق الحيوي للتربينويدز أو الدراسات المتعلقة بالوراثة تقدم معظم الاقتربات المعرفية . كلا الاقتربين يتطلبا رصد ميزانيات كبيرة ولسنوات عديدة وعلى نفس المنوال فإن دراسات الارتباط الوراثي تتطلب توفير مصادر حيوية في صورة وضع برامج تربية وتجارب المصادر . من حسن الطالع أن المواد الحيوية المطلوبة متوفرة لدراسة دور التربينويدز التكوينية والجرحية في مقاومة الصنوبر الأبيض وصنوبر سيناكا ضد سوسة . في صنوبر سيناكا تم تعريف خطوط الإنتاج (Alfare et al., 2002) الصنوبر الأبيض ذات البروفيل شديد التنوع في التربينويدز الفردية في دراسات بروفيل نواتج التمثيل والبروفيل الكيميائي وجد مرتبط بالمقاومة ضد سوس الصنوبر الأبيض . في الدراسات على الصنوبر الأبيض تم الاستقرار على أن تكوين قنوات الراتنج الجرحية المحفزة بالإصابات الحشرية ترتبط إيجابياً مع المقاومة ضد سوس الصنوبر الأبيض . استخدام المنشط المحفز بالحشرات في الصنوبر الأبيض سوف يسمح لنا بالمناورة واختبار دفاعات (Godard et al., 2007) التربينويدز بطريقة أكثر عقلانية عما هو الحال مع التعبير الجيني التكويني (al., 2007).

ولو أن التربينويدز تلعب أدواراً هامة في حماية أشجار الصنوبر ضد الحشرات فإنها ذات دور محدد للهجوم الناجح ضد الصنوبريات بواسطة بعض خنافس القلف وارتباطها بالفطر القاتل للشجرة . حديثاً تم تناول تربينويدز الصنوبر وفورمونات التربينويدز كإشارات في بيولوجي خنفساء القلف كما تم تناول التكوين الجديد لفورمونات التربينويدز في خنافس القلف (Raffa et al., 2005) . لقد تأكد أن التربينويدز المتطايرة والمنبعثة من عائل أشجار الصنوبر تعمل ككيميائيات الاتصالات Semiochemicals لتعريف أنواع الصنوبر العائل وغير العائل . بمجرد تعرض الشجرة للهجوم بواسطة خنفساء القلف فإن إنزيمات الحشرة والكائنات الدقيقة المرتبطة بالحشرة تكون مطلوبة لفقد سمية تربينويدز العائل . فيما وراء فقد السمية البسيط في دفاعات التربينويدز فإن أكسدة المونوترينويدز بواسطة خنافس القلف أو بواسطة الفطريات المرتبطة بها تؤدي إلى تكون الفورمونات اللازمة لتنسيق الهجوم الشرس وتزاوج مئات أو آلاف من الحشرات على الأشجار . أظهرت الدراسات الحديثة في مجال الكيمياء الحيوية والجزيئية أن إنزيمات خنافس القلف P450 تلعب دور محوري في تحول كيميائيات دفاع العائل الصنوبري إلى

فورمونات التربينويدز الحشرية (Huber et al.2007). الهجوم الشرس والكثيف لخنفساء القلف التي تنسق بواسطة فورمونات التربينويدز تسمح للحشرة بسحق واستنزاف النظام الدفاعي للشجرة العائل الكبيرة ومن ثم تسمح للحشرات والممرضات الفطرية بقتل ليس فقط أشجار الصنوبر الفردية ولكن تؤدي إلى حدوث إصابات وبائية تحطم غابة الصنوبر في مساحات شاسعة تصل لملايين الهكتارات. لقد تأكد الآن أن بعض أنواع خنافس القلف التي تهاجم أشجار الصنوبر قادرة على إنتاج فورمونات المونوترينويدز الجديدة.

بالإضافة للدور الأساسي للتربينويدز في تحقيق المقاومة المباشرة في أشجار الصنوبر فإن نظم الدفاعات غير المباشرة التي تعال بواسطة المواد المتطايرة عن أشجار الصنوبر أصبحت معروفة ومؤكدة في بعض أنواع الصنوبريات. كمثال فإنه وضع البيض بواسطة ذبابة النشارة *Diprion pini* تحدث انبعاثات للتربينويدز وغيرها من المواد المتطايرة من صنوبر سكوت مما يؤدي إلى جذب الدبور المتطفل على امتداد ملايين السنين من نشوء أشجار الصنوبر مع الحشرات والكائنات الدقيقة المرتبطة بالحشرات فإن التربينويدز لعبت دوراً وما زالت في تشكيل العديد من التداخلات الخاصة بين الحشرات والممرضات مع أشجار الصنوبر.

References

- Alfaro RI (1995) An induced defense reaction white spruce to attack by the white – pine weevil, *Pissodes strobe*. Can J for Res 25 : 1725 – 1730
- Bohlmann J , Meyer – Gauen G , Croteau R (1998a) Plant terpenoid synthases : Molecular biology and phylogenetic analysis . Proc Natl Acad USA 95 : 4126 – 4133
- Burke C , Croteau R (2002) Geranyl diphosphate synthase from *Abies grandis* : cDNA isolation , functional expression , and characterization . Arch Biochem Biophys 405 : 130 – 136
- Christianson DW (2006) Structural biology and chemistry of the terpenoid cyclases . Chem Rev 106 : 3412 – 3442
- Davis EM , Croteau R (2000) Cyclization enzymes in the biosynthesis of monoterpenes , sesquiterpenes , and diterpenes . Top Curr Chem 209 : 53 – 95
- Erbilgin N , Krokene P , Christiansen E , Zeneli G Gershenzon J (2006) Exogenous application of methyl jasmonate elicits defenses in Norway spruce (*Picea*

- abies) and reduces host colonization by the bark beetle *Ips typographus* .
Oecologia 148 : 426 – 436
- Franceschi VR , Krokene P , Christiansen E , Krekling T (2005) Anatomical and chemical defenses of conifer bark against bark beetles and other pests .
New phytol 167 : 353 – 376
- Gilg AB , Bearfield JC , Tittiger C, Welch WH , Bloquist GJ (2005) Isolation and functional expression of the first animal geranyl diphosphate synthase and its role in bark beetle pheromone biosynthesis , Proc Natl Acad Sci , USA
102 : 9760 – 9765
- Hayashi KI , Kawaide H , Notomi M , Sagiki Y , Matsuo A , Nozaki H (2006) Identification and functional analysis of bifunctional ent – kaurene synthase from the moss *Physcomitrella patens* . FEBS Lett 580 : 6175 – 6181
- Hudgins JW , Christiansen E , Franceschi VR , (2003) Methyl jasmonate induces changes mimicking anatomical defenses in diverse members of the pinaceae . Tree physiol 23 : 361 – 371
- Keeling CI , Weibhaar S , Lin R , Bohlmann J (2008) Functional plasticity of paralogous diterpene synthases involved in conifer defense . Proc Natl Acad Sci USA , in press
- King JN , Alfaro RI , Cartwright C (2004) Genetic resistance of Sitka spruce (*Picea sitchensis*) populations to the white pine weevil (*Pissodes strobe*) : distribution of resistance . Forestry 4 : 269 – 278
- Krekling T , Franceschi VR , Krokene P, Solheim H (2004) Differential anatomical response of Norway spruce stem tissues to sterile and fungus infected inoculations . Trees Struct Funct 18 : 1 – 9
- Langenheim JH (2003) Plant resins ; chemistry , evolution , ecology , and ethnobotany . Timber press Inc , Portland OR , p 586
- Martin D, Bohlmann J (2005) Molecular biochemistry and genomics of terpenoid defenses in conifers , Rec Adv phytochem 39 : 29 – 56
- Mu R , Hilker M (2006) Direct and indirect chemical defense of pine against foliarous insects Trends plant Sci 11 : 351 – 358
- Nagy NE , Franceschi VR , Solheim H , Krekling T , Christiansen E (2000) Wound – induced traumatic resin duct development in stems of Norway spruce (Pinaceae) : anatomy and cytochemical traits . Am J Bot 87 : 302 – 313

- Phillips MA , Croteau RB (1999) Resin – based defenses in conifers . Trends plant Sci 4 : 184 – 190
- Phillips MA , Bohlmann J , Gershenzon (2006) Molecular regulation of induced terpenoid biosynthesis in conifers , phytochem Rev 5 : 179 – 189
- Raffa KF , Aukema BH , Erbilgin N , Klepzig KD , Wallin KF (2005) Interactions among conifer terpenoids and bark beetles across multiple levels of scale : An attempt to understand links between population patterns and physiological processes . Rec Adv phytochem 32 : 79 – 118
- Ralph SG , Jancsik S , Bohlmann (2007b) Dirigent proteins in conifer defense II : Extended gene discovery , phylogeny , and constitutive and stress – induced gene expression in spruce (*Picea* spp.) phytochemistry 68 : 1974 – 1990
- Schmialek P (1963) Compounds with juvenile hormone action . Z Naturforsch 18 : 516 – 519
- Stofer Vogel B , Wildung MR , Vogel G Croteau R (1996) Abietadiene synthase from grand fir (*Abies grandis*) – cDNA isolation , characterization , and bacterial expression of a bifunctional diterpene cyclase involved in resin acid biosynthesis . J Biol Chem 271 : 23262 – 23268
- Trapp SC , Croteau R (2001a) Defensive resin biosynthesis in conifers . Annu Rev plant physiol plant Mol Biol 52 : 724
- Wise ML , Croteau R (199) Monoterpene biosynthesis . In : Cario OE (ed) Comprehensive natural products chemistry : isoprenoids , including carotenoids and steroids , vol 2. Pergamon Press , Oxford , pp 97 – 154
- Zeneli G , Krokene P, Christiansen E , Krekling T , Gershenzon J (2006) Methyl jasmomate treatment of mature Norway spruce (*Picea abies*) tree increases the accumulation of terpenoid resin components and protects against infection by *Ceratocystis polonica* , a bark beetle – associated fungus . Tree physiol 26 : 977 - 988

ثانياً : تمثيل الفينيل بروبانويدز المحفز بالجروح والحشرات آكلة النباتات

من مقالة للسادة العلماء Mark A. Bernard and Lars Bastrup - Spohr . جرح النسيج النباتي سواء بالوسائل الحيوية أو اللا حيوية يؤدي إلى إعادة ترتيب مكثف للتمثيل مع الأهداف الأولية لعزل النسيج الذي تأثر وتحديد درجة حدوث أى ضرر لاحقاً . فى هذا المقام فإن مركبات الفينيل بروبانويدز الجديدة المخلقة معروف عنها أنها تحقق تأثير مضادات أو مانعات التغذية ومضادات للبكتريا كما يكون لها تأثيرات خلوية كما تعمل على بناء جزيئات تركيبية عملاقة (مثل اللجننة والسوبرين ...) والثانينات المكثفة . الدراسات المرجعية التى تصف الهيدروكسى سينامات (ومشتقاتها) والفلافونويدز والثانينات المكثفة بمقارنة أدوارها فى التداخلات بين النبات / أكل النبات غير كاملة . هذا ولو أنه من الواضح أن التخليق الحيوى للفينيل الانين وهو البادئ الضرورى يحفز بواسطة التلف الذى يحدث من آكلات النبات ومن ثم يوجد تحفيز منسق النسخ / الإنزيمات المرتبطة مع حمض هيدروكسى سيناميك والفلافونويدز وتكوين التين المكثف . الدراسات الحديثة على الجينوم أدت للحصول على دليل عن اشتراك العديد من الجينات استجابة لآكل النبات متضمنة تلك الخاصة بتمثيل الفينيل بروبانويدزات . الخطوات التالية تتضمن بالتاكيد التوصيف الوظيفى لهذه الجينات . التقدم اللاحق يعتمد على امتداد أو توسع التحليل لتداخلات أكثر بين النبات والحشرة وكذلك استكشاف تفاعلات النبات استجابة لآكل النبات أو الجروح على امتداد البرنامج الزمنى . تعريف بيوكيمياء تمثيل الفينيل بروبانويدز لتداخلات خاصة بين النبات والحشرة على كلا مستويى النسخ والإنزيم سوف تؤدى إلى اكتشاف مسارات جديدة أو تباينات فى المسارات المعروفة . عند تعريف التداخلات الخاصة بين النبات وآكل النبات مع التباينات فى تمثيل الفينيل بروبانويدز سوف تكشف الاستراتيجيات التى تستخدم بواسطة النباتات للدفاع عن نفسها ونعرف الكثير عن دور أو أدوار الفينيل بروبانويدز فى هذه العمليات .

M.A. Bernards

Department of Biology , The University of Western Ontario , London ,
ON , Canada , N6A 5B7 .

e-mail : bernards@uwo.ca

A. Schaller (ed.), Induce Plant Resistance to Herbivory © Springer
Science + Business Media B.V. 2008 .

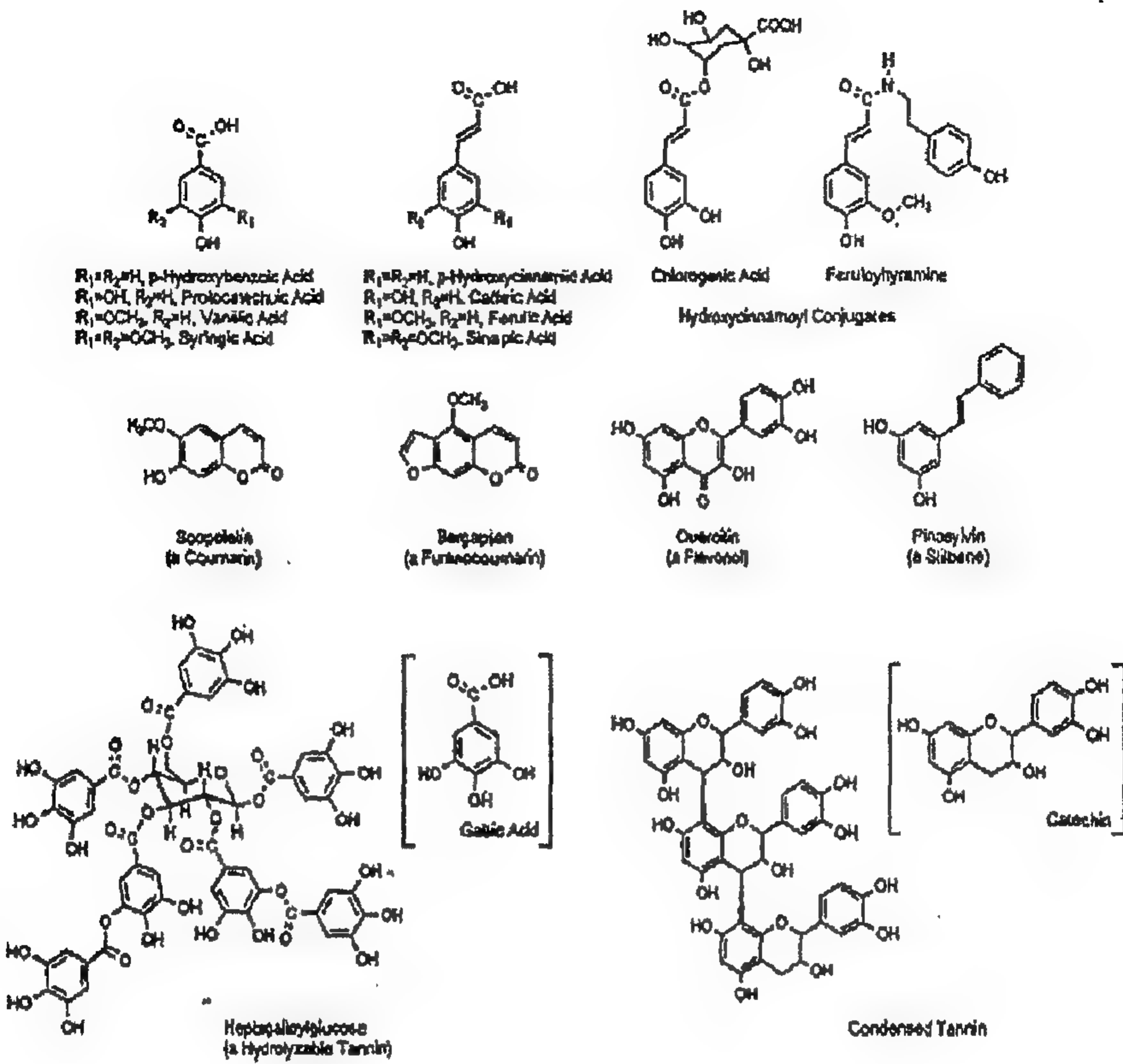
١ - مقدمة

النجاح الشامل للنباتات في الدفاع عن نفسها ضد آكلات النباتات تعتمد على خليط من كلا الدفاعات سابقة التكوين (الكيمائيات النباتية والحواجز الطبيعية ... الخ) وكذلك على الدفاعات التي تحفز بواسطة القرص أو الثقب أو المص الذي تقوم به الحشرات . في هذا المقام نقوم بتلخيص مجال تحفيز تمثيل الفينيل بروبانويدز بواسطة الحشرات أو الجروح مع توضيح أنواع الجزيئات المشتركة والإنزيمات والمسارات المرتبطة بتخليقها الحيوي . سوف نبدأ باستعراض أنواع المركبات الفينولية المعروفة تراكمها استجابة للجروح أو الإصابة بآكلات الأوراق وبعض من أدوارها المفترضة في الدفاع ضد الحشرات آكلات الأوراق متبوعة بوصف الدراسات المرجعية للنظم الإنزيمية لتمثيل الفينيل بروبانويدز التي تحفز بالجروح و / أو آكلات الأوراق . الكثير من الدراسات المرجعية الحديثة ركزت على تحفيز جينات خاصة على مستوى النسخ واستخدام الغريلة العريضة للجينوم لآكلات النباتات والجينات التي تحفز بالجروح باستخدام الترتيب الدقيق المتاح . في المستقبل هناك حاجة لمزيد من الفهم عن دور الفينولات في التداخل الشامل بين البطاقات وآفات الحشرية والتوصيف الوظيفي لدسات من الجينات المزعوم اشتراكها في التمثيل المحفز لمركبات الفينيل بروبانويدز .

٢ - مركبات الفينول والتداخلات بين النبات و آكل العشب

٢-١ - دور الفينولات في التداخلات بين النبات و آكل العشب

مركبات الفينولات عبارة عن مركبات عطرية تحمل واحدة أو أكثر من مجموعة الأيدروكسيل على حلقة عطرية . الفينيل بروبانويدز عبارة عن مركبات فينولية مشتقة من الفينيل الانين . ولو أنه يوجد ما يزيد عن ٨٠٠٠ مركب فينولي تقسم في ١٤ قسم من المركبات بناء على عدد ذرات الكربون وترتيبها (Strack, 1977) فإن قليل منها تشترك في التداخلات بين النبات و آكل العشب . من بين هذه المركبات أحماض البنزويك وأحماض الهيدروكسي سيناميك (ونواتج الاقتتران) وكذلك الفيورانوكومارينات والكومارينات وستلبيينات والفلافوتويدز (خاصة الفلافونولات) والتينينات المتحللة مائياً والتانينات المكثفة (بوليمرات كاتيكن - الشكل ٦-١) واللجنين (Constable , 1999) (. الجروح و آكلات العشب تحفز كذلك تكوين تحويرات من جدر الخلايا التي تعتمد على الفينولات العديدة الأخرى خاصة سوبيرين .



شكل (٦-١) : بعض الفينولات المرتبطة بالجروح وآكلات العشب . يلاحظ وجود أمثلة من الأقسام الرئيسية لمركبات الفينول المعروف ارتباطها بأى من استجابات النباتات للجروح الميكانيكية و / أو أكل العشب . بالنسبة للتانيينات فإن تكرار وحدات الفينول موضحة فيما بين الأقواس المربعة .

المركبات الفينولية المختلفة تلعب أدوراً مختلفة في التداخل بين النبات و آكلية النباتات. كمثال فإن أحماض هيدروكسي سيناميك قد تلعب كروابط عبر جدار الخلية التي تقى وتحمى جدر الخلايا النباتية ضد ضرر القرص (Santiago et al ., 2005) . التانيينات التي تتراكم في العديد من الأنواع النباتية استجابة لآكلية العشب خاصة داخل الأشجار الأكثر شيوعاً تحقق تأثيرها الحيوى خلال ارتباط البروتين . لقد أتضح أنها تؤثر على أنواع كثيرة من آكلات العشب من الحشرات وحتى الثدييات . فى الحشرات التي تتغذى عادة على التانيينات وجدت تملك غشاء سميك نسبياً يبطن طلائية المعى الأوسط . هذا يعتقد أنه دليل نشوى بأن التانيينات تلعب دوراً فى التداخلات بين النبات والحشرة .

توجد الثانينات أساساً في الأنواع الخشبية ومن ثم تحدث تأثيرها أولاً على الأنواع التي ترعى على الأشجار (Bernays et al., 1989) .

الثانينات المكثفة وغير المكثفة تساهم في المقدرة الشاملة للأكسدة الخلوية (2006 , Barbenenn et al., 2005) كما تعمل الفلافونيدز الأخرى . من نواحي الجدل أن الملامح الأساسية الكبرى للفينيل بروبا نودز بوجه عام تتمثل في خاصية مضاد الأكسدة (حيث يسهل أكسدتها إلى وسائط الكونيون ذات الثبات النسبي) ولكن في اتجاه المقاومة لآكلات العشب فإن هذا يترجم في قسم من المركبات التي بمجرد تأكسدها تتداخل مع البروتينات في القناة الهضمية للحشرات القارضة والثدييات هذا يؤدي إلى خفض شامل في جودة التغذية للمادة النباتية و / أو تسبب إجهاد تأكسدي في آكلات العشب (Bi and Felton , 1997) . تأثير مركبات الدفاع على آكلات الأوراق تتفاوت كذلك تبعاً لنوع المركب . كمثال فإن مركبات الدفاع تؤثر على استقرار أكل العشب والتغذية ووضع البيض والنمو والخصوبة والتكاثر (Waling 2000) .

حيث أن العديد من مركبات الفينول (مثل هيدروكسي سينامات ، مقترنات هيدروكسي سينامويل ، الفلافونيدز) تملك خواص مضادة (Ding et al ., 2000) فإن تراكمها في الأنسجة المضارة بواسطة الجروح (بما فيها التلف الناتج عن القرض) يلعب دور مزدوج : دفاع مباشر ضد آكلات الأوراق والحماية ضد الممرضات الوافدة . كمثال فإنه في حالة الاستجابة للجروح في درنات البطاطس حيث أن الدور الأساسي للتمثيل المحفز للفينيل بروبانويد يبدو أنه يرتبط بتكوين أساس الفينولات العديدة للسوبرين والفينولات الأخرى (مثل هيدروكسي سينامويل أميدات ، حامض الكلوروجينيك) التي لا تشترك فقط في تكوين السوبرين ولكنه يعمل على تراكمه . فينولات السوبرين تلعب دوراً في تكوين الحاجز الطبيعي بينما الفينولات الذائبة تملك صفات مضادة للميكروبات ويفترض أنها تقوم بالحماية ضد مسببات الأمراض .

٢-٢ - التراكم التكويني في مقابل المحفز للفينولات

الفينولات تتوزع بشكل عريض في النباتات وتتراكم خلال النمو والتطور الطبيعي . بالتبعية فإن الفينولات توجد تكوينياً في النباتات قبل أن يحدث تحفيز للضرر بواسطة الحشرات أو الثدييات آكلة النباتات (مثل الجروح) . في الحقيقة فإن أدوار الفينولات الدفاعية سابقة التكوين ضد آكلات الأوراق موثقة جيداً (Ding et al., 2000) وتشمل الحواجز الطبيعية مثل جدار الخلية الرابط للفينولات واللجنينات والسوبرين والفينولات المرتبطة بالكيوتاكل وكذلك المركبات المخزنة التي تطرد آكلات النباتات (مانعات تغذية) أو ذات السمية المباشرة (مبيدات حشرية Walling 2000) . من جهة أخرى فإن الدفاعات المحفزة بخصائص من خلال تخليق مركبات جديدة أو حواجز تركيبية بعد هجوم آكلات العشب التي تحفز الضرر وتشمل كلا نواتج البروتينات والمثلاث الثانوية .

الدفاعات المحفزة يمكن أن تعمل موضعياً بالقرب من نقطة الهجوم و / أو جهازياً كما هو الحال ما يحدث خلال النبات .

حيث أن إنتاج المركبات المرتبطة بالدفاع مكلفة تمثلياً فإن ميكانيكيات الدفاع التكوينية أو المحفزة يمكن أن تظهر استراتيجيتان مختلفتان لتفادي آكلات النباتات . الدفاعات التكوينية توجد دائماً ولكنها مكلفة كثيراً من حيث الطاقة . كمثال فإن التانينات تتراكم كوسيلة دفاع تكوينية في الأوراق في أشجار الحور (Arnold et al ., 2004) ولكن درجة التراكم تعتمد أو تتوقف على شدة تغوير الأوراق النامية والارتباط مع استيراد الكربوهيدرات من الأوراق العجوزة . إذا حدث إزالة غوار الأخرى مثل الجذور بواسطة التخريم ومن ثم انقاص المنافسة على الكربوهيدرات تحدث زيادة في تركيز تانين الأوراق . زيادة تراكم الفينولات ارتباطاً مع شدة تغوير عالية لا يبدو عالمياً أو شائعاً حيث وجدت ظاهرة عكسية في أنواع عاريات البذور *Pinus sylvestris* حيث كان إنتاج الفينولات يرتبط مع شدة التغوير .

على نفس المنوال فإن الفينولات تحفز في الأوراق خشب الحور كاستجابة للرعى بواسطة يرقات الفراشة العجورية والجرح الميكانيكي والمعاملة بأحماض الجسمونيك . في هذه الدراسة وجد استجابات الفينولات في الأوراق المحفزة بواسطة آكلات الأوراق في الأيام الأولى من السادس إلى الثامن بعد الانبثاق عندما عومل المجموع الخضري كله بحمض الجسمونيك . خلال هذه الفترة تتميز الأوراق بوجود شدة تغوير تتضح من خلال نشاط إنزيم جدار الخلية الانفرتيز الذي يسهل عدم تحميل اللحاء للخلايا . لقد وجد الباحث Arnold ومعاونوه ٢٠٠٤ عندما تزال الأوراق مصدر الكربوهيدرات فإن الاستجابة المحفزة لحمض الجسمونيك تنخفض بشكل كبير . هذه النتائج توضح أنه حتى الاستجابة الدفاعية الموضعية في المجموع الخضري النامي يعتمد لحد ما على المسافة الطويلة لانتقال الكربوهيدرات من أنسجة المصدر . لذلك فإن دور التانينات في دفاع النبات وقد تكون فينيل بروباتويدز أخرى مشتركة كذلك لا تعتمد فقط على الأساس الوراثي للنبات لإنتاجها ولكن كذلك على أى مرحلة خاصة توجد عليها الأوراق وإذا كان هناك مصدر للكربوهيدرات لتزويد عناصر الإنتاج .

الدفاعات المحفزة تحدث فقط بعد تلف النسيج . ولو أن هذا يحقق الدفاع مع تكلفة طاقة منخفضة فإنه يحدث بعض الفقد في الكتلة الحيوية . لذلك فإن النباتات تحتاج لتوازن مصادر الكربون والنيتروجين بين هذين النوعين من الدفاعات والنمو الخضري والثماري لتأكيد البقاء على المدى الطويل . هذا ولو أنه ليس دائماً يسهل التمييز بين ميكانيكيات الدفاع التكويني والمحفز حيث أن بعض المركبات المرتبطة بالدفاع تخلق تكوينياً وتخزن (Gatehouse) كما تخلق بشكل جديد استجابة للضرر الذي حدث بواسطة آكلات الأوراق (2002).

إضافة إلى هذه التعقيدات فإن مسارات التمثيل المحفز تختلف عندما تتعرض النباتات للأنواع المختلفة من آكلات العشب وحتى مع أنواع النباتات أو الأشجار نفسها . بوجه عام فإن الحشرات ذات أجزاء الفم الثاقبة الماصة تظهر استجابة مشابهة لما يحدث مع الممرضات الفطرية والبكتيرية النباتية بينما الحشرات القارضة تحدث استجابة شبيهة لما تحدثه الجروح الميكانيكية . في حالة الحشرات القارضة تم الإشارة إلى أن التلف الذي تحدثه الحشرات لا يكافئ ما تحدثه الجروح الميكانيكية فقط حيث أنه وكمثال فإن الحشرات التي تتقيأ Regurgitant تستطيع زيادة الاستجابة لآكل النباتات القارض أكثر من ذلك الذي يحفز بواسطة الجروح الميكانيكية لوحدها (Korth and Dixon , 1977) . بالإضافة إلى ذلك فإن بعض النباتات تتفاعل بشكل متخصص لنوع واحد من آكلات العشب أو حتى لطور حياة خاص داخل النوع والذي قد يستجيب لمحتوى اللعاب في نوع الحشرة . هذا ولو أن الاستجابة في النباتات لتلف الجرح أو أكل النباتات جنباً إلى جنب في تمثيل الفينيل بروبانويدز وتراكم مركبات الفينول تكون هي نفسها بالضرورة حيث أن نفس أنواع المركبات تحفز حتى تتراكم ومن ثم تشترك نفس الإنزيمات في العملية .

٢-٣- التخليق الحيوي المحفز للمركبات الفينولية

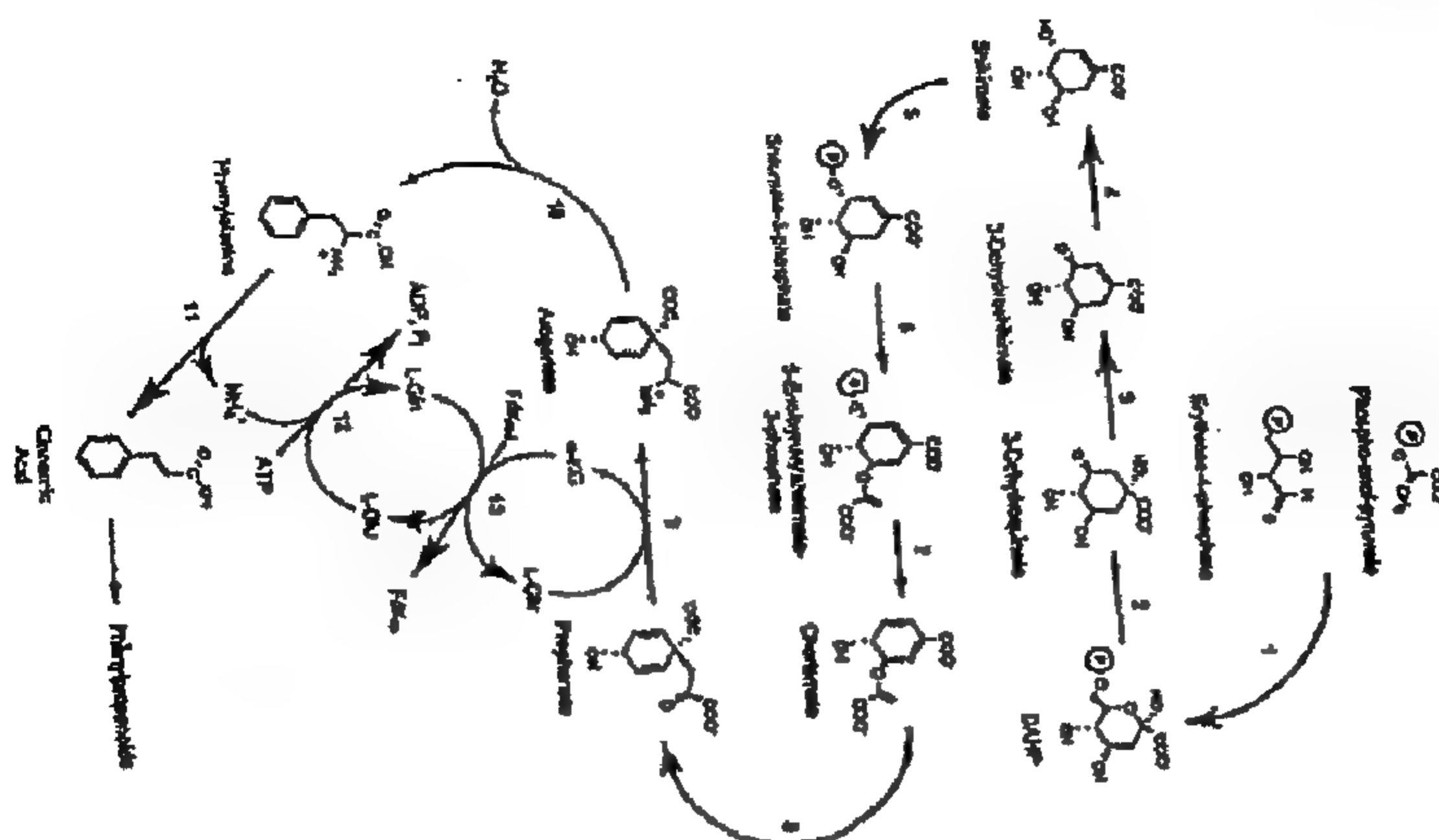
من الناحية التاريخية فإن تمثيل الفينيل بروبانويدز يقسم إلى مرحلتين أساسيتين : التمثيل العام للفينيل بروبانويدز (مثل التخليق الحيوي لأحماض الهيدروكسي سيناميك) والتمثيل ذات المسار الخاص (مثل أحماض هيدروكسي سيناميك كبدائنات لأقسام خاصة من الفينيل بروبانويدز أو الكومارينات Strack 1977) . لقد أتضح حديثاً أن التحول الداخلي بين أحماض هيدروكسي سيناميك لا يقع بالضرورة داخل مسار عام معروف (Dixon et al ., 2001) وفي الحقيقة يمثل فروعاً في مسارات المركب من القسم الخاص كما يحدث مبكراً مع السينامات (أو سينامويل - مرافق إنزيمي A-) أو بعد هيدروكسلة ليكون بارا - كيومارات . استتباعاً لذلك فإن التمثيل العام للفينيل بروبانويدز يتكون فقط من خطوتين فقط : فقد الأمين للفينيل الانين بواسطة إنزيم فينيل الانين أمونيا - ليليز (PAL) وهيدروكسلة في ذرة ٤ - للسينامات بواسطة إنزيم سينامات ٤- - هيدروكسيليز (C4 H) .

الأقسام الرئيسية لمركبات الفينول الذائبة التي تشترك في استجابة النباتات للجروح وهجوم آكلات النباتات هي أحماض هيدروكسي سيناميك (ونواتج اقترانها ومشتقاتها) . هذا ولو أن التانينيات (عبر الفلافونويدز) وسوف نتناولها فيما بعد . كما أن الفينيل بروبانويدز تشق من الفينيل الانين والتي تخلق كمركبات جديدة كجزء من الاستجابة الشاملة للجروح أو آكلات النباتات ومن المهم أخذ ذلك في الاعتبار كمرحلة مبكرة في التمثيل المحفز للفينيل بروبانويدز .

٢-٣-١- مسار الشيكيمات The Shikmate pathway

الأحماض الأمينية العطرية الثلاثة جميعاً : فينيل الانين وتيروسين وتربتوفان تخلق عبر مسار الشيكيمات . بالنظر إلى تمثيل الفينولات المحفز فإن تخليق الفينيل الانين (الشكل ٦-٢ والجدول ٦-١) ذات أهمية خاصة بسبب أن التدفق الكبير للكربون يجب أن يمر خلال هذا الوسيط . الإنزيم الأول في مسار الشيكيمات هو ٣- ديوكسي - د - أرابينو - هتايولوسونات - ٧ - فوسفات (DAHP) سينسيز الذى يساعد فى تكثيف جزيء واحد من كل من فوسفو انيو بيروفات و اريسروز - ٤ - فوسفات وكلاهما مواد بادئة نشأت من التمثيل الأولى . لقد أتضح أن إنزيم DAHP سينسيز يحفز عند النسخ والبروتين ومستويات النشاط الإنزيمى فى درنات البطاطس المجروحة وثمار الطماطم (Dyer et al., 1989) . حديثاً تم الكشف عن تنظيم جين إنزيم DAHP سينسيز فى قلف صنوبر سيتكا بعد الجرح الميكانيكى وتغذية السوس وكذلك فى البراعم بعد تغذية يرقات دودة براعم الصنوبر عند مستوى النسخ باستخدام اقتراب برومئيل الجين للتركيب الدقيق (Ralph et al., 2006) . بالإضافة إلى ذلك أتضح شيكيمات كينيز ينظم تنسيقاً مع إنزيم DAHP سينسيز فى نفس الأنسجة . على نفس المنوال فإنه قد أتضح أن الجروح تحفز مستويات النشاط الإنزيمى ديهيدروكوينات ديهيدراتيز / شيكيمات ديهيدروجينيز فى البطاطا وإنزيم كوريسمات ميوتيز فى درنات البطاطس . هذه الدراسات أظهرت ارتباط مؤثر بين تمثيل الكربون الأولى والتخليق الجديد للفينولات استجابة للجروح وهجوم آكلات النباتات . لم يثبت اشتراك إنزيمات أخرى فى مسار الشيكيمات بشكل مباشر فى استجابة النباتات للجروح أو لهجوم آكلات النباتات سواء على مستوى النسخ أو البروتين . هذا ولو أن الاستقرار الحديث للجينوم مع التعبير الجينى خلال التكوين النشط للجين فى أشجار الحور أظهر أن العديد من الجينات فى مسار الشيكيمات تنظم بشكل منسق متضمنة ٣ - ديهيدروكوينات سينسيز ، ٣- ديهيدروكوينات ديهيدراتيز / شيكيمات ديهيدروجينيز ، شيكيمات كينيز ، كوريسمات سينسيز ، كوريسمات ميوتيز ، افتراض أسبرتات : برويفينات أميتوترانسفيريزيس وأورجينات ديهيدراتيز . بالتأكد لا إنزيم أورجينات ديهيدروجينيز الذى يكون التيروسين من الأروجينات ، ولا أى من الجينات المرتبطة بالتخليق الحيوى للتربتوفان (الذى يستبعد فروع مسار الشيكيمات الأساسى) تنظم خلال اللجنة مما يؤدى إلى الاقتراح بوجود عملية خاصة تحدد من اشتراك جينات مسار الشيكيمات . لقد لوحظ كذلك حدوث تنظيم متزامن على درجة عالية لجينات الإنزيمات المشاركة فى مسار الشيكيمات وكذلك مسار PAL الذى لوحظ فى مزارع خلايا الطماطم استجابة للمحفزات الفطرية (Gorchach et al., 1995) . لقد أوضحت الدراسات المتعددة حدوث تنظيم منسق لمسار التخليق الحيوى مما يؤدى إلى التزويد ببادئ تمثيل الفينيل بروبانويد . يفترض أن هذا المستوى من التنظيم المنسق

يكون مفعّل عندما يحفز تمثيل الفينيل بروبانويدز بواسطة التلف من الجروح أو من جراء هجوم آكلات الأوراق .



شكل (٦-٢) : مسار الشيكيمات وإعادة تدوير النيتروجين (N) في النباتات . مسار حمض الشيكميك من فوسفو إينول بيرورات ، ارثروز - ٤ - فوسفات إلى الفينيل الانين موضح . العوامل المرافقة والوسائط المرافقة لم توضح . الرجوع إلى الجدول (٦-١) . الأسهم الكبيرة توضح الخطوات التي تظهر مردودات حدوث الجروح وهجوم آكلات العشب ودورها في التعبير الجيني المحفز و / أو النشاط الانزيمي . الإنزيمات هي :

Enzymes are : (1) 3- deoxy -D- arabino - heptulosonate -7- phosphate (DAHPS) synthase ; (2) 3- dehydroquinate synthase ; (3) 3- dehydroquinate dehydratase ; (4) shikimate dehydrogenase ; (5) shikimate kinase ; (6) 5- enolpyruvylshikimate -3- phosphate (EPSP) synthase ; (7) chorismate synthase ; (8) chorismate mutase ; (9) aspartate : prephenate aminotransferase ; (10) arogenate dehydratase ; (11) phenylalanine ammonia - lyase ; (12) glutamine synthetase ; (13) ferredoxin - dependent glutamine ; 2- oxoglutarate aminotransferase . cl-KG a- ketoglutarate 2 - oxoglutarate) ; Fdx_{red} reduced ferredoxin ; Fdx_{ox} oxidized ferredoxin . (Adapted in part from Razal et al., 1996 ; Strack 1997 ; Croteau et al. 2000) .

جدول (٦-١) : إنزيمات مسارات شيكيميات التي تؤدي إلى تكون الفينيل الانين والجينات المرتبطة بها في نباتات أرابيدوبسيس

Enzyme name	E.C number ¹	Reaction catalyzed	Representative Arabidopsis genes ²
1 3-Deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate Sythase (DAHPS)	2.5.1.54	Phosphoenolpyruvate + erthrose 4-phosphate + H ₂ O - 3-Deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate + P _i	At1g22410, At4g33510, At4g39980
2 3-Dehydroquinate Sythase	4.2.3.4	3-Deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-	At5g66120

			phosphate – dehydroquinone + P _i	
3 / 4	3-Dehydroquinone Dehydratase/Shikimate Dehydrogenase	4.2.1.10/ 1.1.1.25	3-dehydroquinone – 3- dehydroshikimate + H ₂ O 3-dehydroshikimate + NADP ⁺ - shikimate + NADPH, H ⁺	At3g06350
5	Shikimate Kinase (SK)	2.7.1.71	Shikimate + ATP – shikimate-3- phosphate + ADP	At1g06890, At1g60530, At2g14050, At2g16790, At2g21940, At2g35500, At3g50950, At3g26900, At4g39540, At5g22370, At5g45210, At5g47050
6	5-enolpyruvylshikimate phosphate Synthase (EPSPS)	3- 2.5.1.19	Shikimate-3-phosphate + phosphoenolpyruvate – 5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate + P _i	At1g48860, At2g45300
7	Chorismate Synthase (CS)	4.2.3.5	5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate – chorismate + P _i	At1g48850
8	Chorismate Mutase (CM)	5.4.99.5	Chorismate – prephenate	At1g69370, At3g29200, At5g10870
9	Aspartate-Prephenate Aminotransferase	2.6.1.78	Prephenate + aspartate – arogenate + oxaloacetate	Unknown in Arabidopsis
1 0	Arogenate Dehydratase (ADT)	4.2.1.91	Arogenate – phenylalanine + CO ₂ + H ₂ O	At1g08250, At1g11790, At2g27820, At3g07630, At3g44720, At5g22630
1 1	Phenylalanine Ammonia-lyase (PAL)	4.3.1.5	Phenylalanine – cinnamate + NH ₄ ⁺	At2g37040, At3g10340, At3g53260, At5g04230
1 2	Glutamine Synthetase (GS)	6.3.1.2	Glutamate + NH ₄ ⁺ + ATP – glutamine + ADP + P _i	At1g48470, At1g66200, At3g17820, At3g53180, At5g16570, At5g35630, At5g37600

تابع جدول (٦-١) : إنزيمات مسارات شبيكمات التي تؤدي إلى تكون الفينيل الانين والجينات المرتبطة بها في نباتات ارابيدوبسيس

Enzyme name	E.C number ¹	Reaction catalyzed	Representative Arabidopsis genes ²
1 Ferredoxin-dependent 3 glutamate synthase	1.4.7.1	Glutamine + 2-oxoglutarate + Fdx _{red} - 2-glutamate + Fdx _{ox}	At2g41220

¹ Enzyme Nomenclature (web version) www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/

² Gene identifiers are from Ethling et al. 2005, Ralph et al. 2006, and The Arabidopsis Information Resource (TAIR) (www.Arabidopsis.org). Not all genes listed have been functionally characterized; nor are the lists considered complete.

³ Enzyme number refer to the corresponding reaction in Fig. 9.2.

من الواضح وجود ارتباط بين الإصابة بأكالات النباتات وحدث الجروح ميكانيكياً مع تحفيز إنزيم PAL عند مستويات النسخ والبروتين والإنزيم (Qiuju et al., 2005). إنزيم فينيل الانين أمونيا - ليزر تعمل كممر للإنزيم في تمثيل الفينيل بروبانويد . في هذا المقام نشير إلى أنه حيث أن تمثيل الفينيل الانين يمثل نقطة خروج من مسار الشبيكمات وهذا ما سوف نتناوله بالتفصيل فيما بعد . فقد الأمين في الفينيل الانين بواسطة إنزيم PAL يؤدي إلى إنتاج مركبين : حامض سيناميك والأمونيا . كما لوحظ قبل أن إنتاج مركبات الدفاع مكلفة من ناحية التمثيل وتكلفة تمثيل الفينيل بروبانويد المحفز لكيمايات الدفاع تكون عالية جداً إذا حدث فقد طول لمول من الأمونيا مع كل مول من ناتج تمثيل الفينيل بروبانويد المتكون . هذا ولو أن النباتات تشترك نظام تمثيل فعال لإعادة تدوير النتروجين وفيه تتفرد الأمونيا من الفينيل الانين بواسطة إنزيمات PAL الذي يعاد استخدامه في إنتاج فينيل الانين أكثر (الشكل ٦-٢) . ميكانيكية إعادة التدوير التي تتضمن إنزيمات جلوتامين سنيسير / فيريدوكسين - جلوتامين ٢- أوكسوجلوتارات أمينو ترانسفيريز (GS/GOGAT) ونظام تمثيل الأمونيا لوحظ في درنات البطاطس التي تشفى من الجروح (Razal et al ., 1996) . وفي درنات البطاطا وفي مزارع الخلايا اللجينة لشجرة الصنوبر . لذلك فإن الطلب الكبير للفينيل الانين الذي يرجع إلى تمثيل الفينيل بروبانويد المحفز بالجروح يقابل أو يتحقق بتحفيز مسار الشبيكمات والنظام الفعال لإعادة تدوير النتروجين من العقلانية أن نفترض أن مسارات الشبيكمات وإعادة تدوير النتروجين ترتبط بشكل عريض في التداخلات بين النبات واكل النبات مما يؤدي إلى تخليق جديد للفينولات ولكن تأكيد هذا الاشتراك غير مؤكد .

٢-٣-٢ - التحفيز العام لتمثيل الفينيل بروبانويدز وأصل الهيدروكسي سينامات

تحفيز تمثيل بروبانويدز مفهوم ضمناً في تراكم مركبات الفينول المتكونة حديثاً في نباتات عديدة استجابة للتلف بواسطة آكلات النبات مثل أحماض بارا - كوماريك وفيروليك في القمح المعرضة لآفة *Sitodipolis mosellana* والذرة المعرضة لحشرة *Sesamina noonagrioides* والتانينات في أنواع أشجار عديدة والفينولات في نباتات *Medicago truncatula* بواسطة دودة ورق القطن - توجد تقارير قليلة نسبياً تم القياس المباشر لنشاط التخليق الحيوي للفينيل بروبانويد .

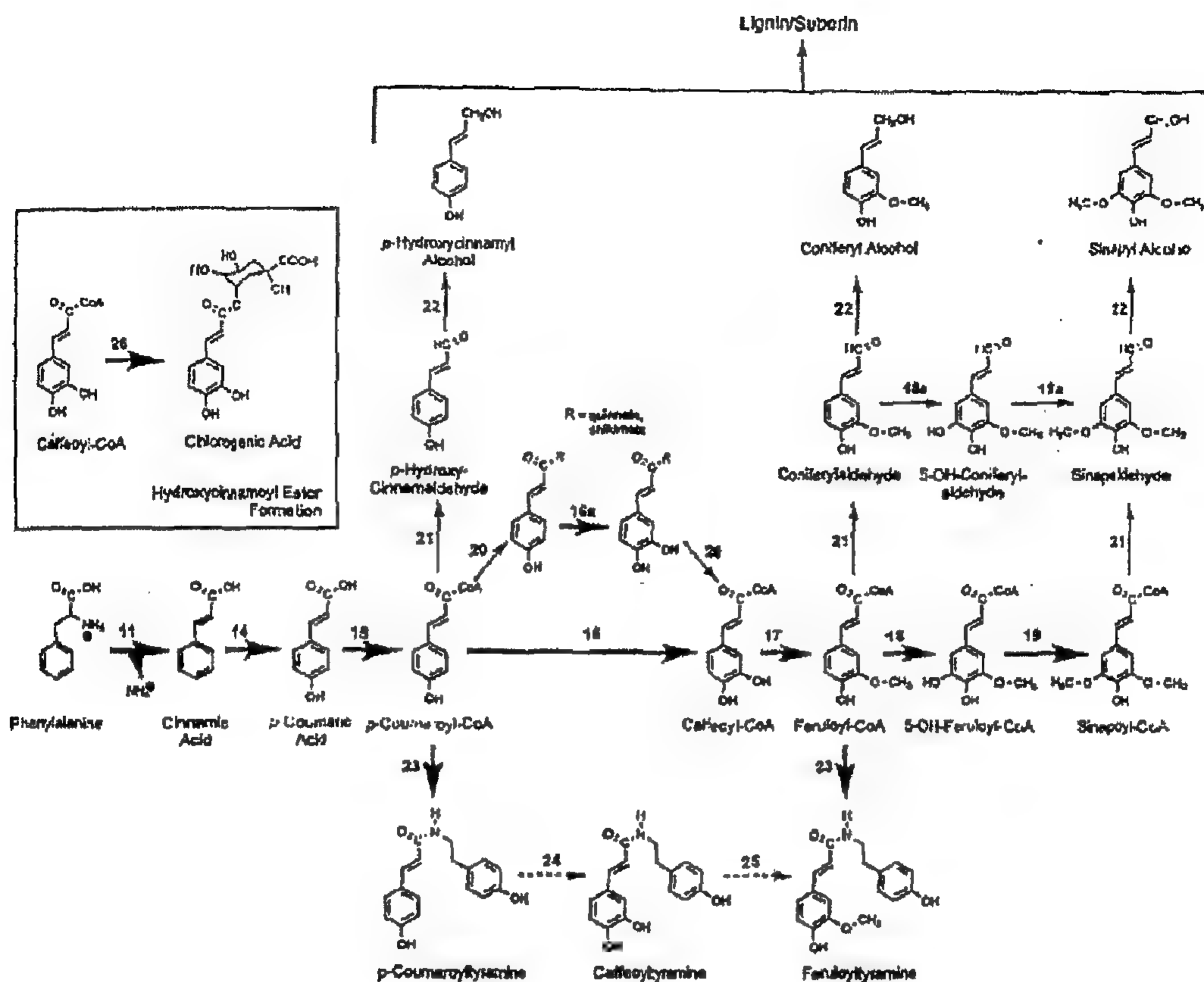
إنزيم فينيل الانين أمونيا - لبيز (PAL) هو البداية التي يقدم منها الإنزيم هياكل الكربون ك٦ - ك٣ لتكوين جميع الفينيل بروبانويدز الضرورية ومشتقاتها (الشكل ٦-٣، الجدول ٢-٦) . تحول الفينيل بروبانويدز Phe إلى سينامات + ن يد،⁺ يعتبر تفاعل غير عكسي من الناحية الفسيولوجية ومن ثم يعتبر دليل جيد عن تعهد الكربون في تمثيل الفينيل بروبانويدز . إنزيم PAL يمثل بواسطة عائلة صغيرة من الجينات . كمثال تم تعريف ما لا يقل عن أربعة جينات على أنها PAL في قاعدة المعلومات لنبات أرابيدوبسيس بينما تم وصف عشرة تتابعات متميزة معبر عنها (EST's) لصنوبر سبتكا (Ralph et al., 2006) . ليس مستغرباً أن هذه الخطوة في مسار تمثيل الفينيل بروبانويد لاقت الكثير من الاهتمام في الدراسات المرجعية خاصة في اتجاه وظيفي يتمثل في دورها في تحفيز الإجهاد الحيوي واللا حيوي كما في الاستجابة لهجوم الممرضات النباتية ، التعرض للأشعة فوق البنفسجية وحدوث الجروح ... الخ . من منطلق التحفيز من جراء هجوم آكلي النباتات تم القياس المباشر لزيادة نشاط PAL في قليل من نظم الحشرة / النبات كما في الحالات :

e.g., *Helicoverpa zea* damaged soybean leaves (Bi and Felton 1995); *Apocheima pilosaria* damaged birch (Hartley and Firm 1989) ; gypsy moth larvae damaged poplar leaves (Arnold et al. 2004) .

على مستوى النسخ اتضح أن إنزيم PAL يحفز بواسطة التلف الذي تحدثه الحشرات في نباتات الأرابيدوبسيس وصنوبر سبتكا . يوجد العديد من الأمثلة عن إنزيم PAL المحفز بالجروح وكلاهما على مستوى النسخ (Devoto et al., 2005) .

إنزيم سينامات -٤- هيدروكسيليز (C4H) تساعد وتحفز العديد من تفاعلات الهيدروكسلة الأولى في تمثيل الفينيل بروبانويدز (الشكل ٦-٣) مما يؤدي إلى تخليق المركب الفينولي الأول حامض بارا - كوماريك في مسار تمثيل الفينيل بروبانويد (شكل ٣-٦) . الإنزيم سيتوكروم ٤٥٠ - مونواكسجينز تحت عائلة Cyp 73A . إنزيم

سينامات ٤- هيدروكسيليز يحفز على مستوى النسخ فى صنوبر ستىكا المضار بالجروح والحشرات وفى سيقان أشجار الحور الملجننة .



شكل (٦-٣) : التخليق الحيوي لأحماض هيدروكسي سيناميك ومقترناتها ومشتقاتها . التخليق الحيوي للهيدروكسي سينامات ، مقترنات هيدروكسي سينامويل ومشتقات الهيدروكسي سينامات موضحة في الشكل . العوامل المرافقة والوسائط المرافقة غير موضحة . يمكن الرجوع للجدول (٦-٢) . الأسهم الكبيرة توضح الخطوات التي توضح أن الجروح و / أو هجوم آكلات النباتات تؤدي إلى تعبير جيني محفز و / أو نشاط إنزيمي بينما الأسهم المشرطة تمثل خطوات افتراضية . الإنزيمات المشاركة هي :

(11) phenylalanine ammonia-lyase ; (14) cinnamate 4-hydroxylase ; (15) 4-coumaroyl-CoA ligase ; (16/6a) coumarate 3-hydroxylase ; (17) caffeoyl-CoA O-methyltransferase ; (18/8a) ferulate 5-hydroxylase ; (19/19a) caffeic acid / 5-hydroxyferulic acid O-methyltransferase ; (20) hydroxycinnamoyl-CoA : shikimate / quinate hydroxycinnamoyltransferase ; (21) cinnamoyl-CoA reductase ; (22) cinnamyl alcohol dehydrogenase ; (23) hydroxycinnamoyl-CoA : tyramine hydroxycinnamoyltransferase ; (24) p-coumaroyl:tyramine 3-hydroxylase ; (25) caffeoyl:tyramine O-methyltransferase ; (26) caffeoyl-CoA : quinate

caffeoyltransferase . (Adapted in part from Strack 1997 ; Croteau et al. 2000 ; Humphreys and Chapple 2002) .

على نفس المنوال فإن نسخ C4H في خرشوف القدس وأوراق كامبوتوثيكا اكيوميناتا (Kin et al., 2005) استجابة للجروح تم حدوثه . تكوين حامض بارا - كوماريك يمثل خطوة حرجية ومحددة في تمثيل الفينيل بروبانويدز حيث أن هذا الوسيط يمكن أن يستخدم كبادئ لعدد وافر من المنتجات النهائية (أشكال ٦-٣ ، ٦-٤) . كمثال البارا - كومارويل - المرافق الإنزيمي A هو البادئ المباشر لجميع الفلافونويدز (الشكل ٦-٤) وفي النهاية التانينات المكثفة والمونولجثولات (من خلال بارا - كومارويل كوينات أو البارا - كوماريل شيكيمات كوسائط) وكذلك مقترنات الهيدروكسي سيتامويل (مثل هيدروكسي سينا مويل تيرامينات) . من الشائع كذلك هذا الوسيط لعمليات الهيدروكسلة والمثلة لتكوين نظم إحلالية عطرية متميزة من الفينولات .

جدول (٦-٢) : إنزيمات تمثيل الفينيل بروبانويد التي تؤدي إلى إنتاج أحماض هيدروكسي سيناميك ومقترناتها والجينات المرتبطة بها في نباتات أرابيدوبسيس .

Enzyme name	E.C number ¹	Reacton catalyzed	Representativ e Arabidopsis genes ²
14 ³ Cinnamate-4-Hydroxylase (C4H) (CYP73A)	1.14.13.11	cinnamate + NADPH,H ⁺ + O ₂ - p-coumarate + NADP ⁺ + H ₂ O	At2g30490, At2g30160, At2g30600, At2g30580
15 4-Coumaroyl-CoA Ligase (4CL)	6.2.1.12	p-coumarate + coenzyme A + ATP - p-coumaroyl-CoA + AMP + PP _i	At1g51680, At1g65060, At3g21230, At3g21240
16 / 16a Coumarate-3-Hydroxylase (C3H) (CYP98A)	1.14.13.36	p-coumaroyl-CoA (quinate / shikimate) + NADPH,H ⁺ + O ₂ - caffeoyl-CoA (quinate/shikimate) + NADP ⁺ + H ₂ O	At1g74540, At1g74550, At2g40890
17 Caffeoyl-CoA O-Methyltransferase (CoAOMT)	2.1.1.104	Caffeoyl-CoA + S-adenosyl-L-methionine - feruloyl-CoA + S-adenosyl-L- homocysteine	At1g24735, At1g67980, At1g67990, At3g61990, At4g26220, At4g34050
18 / 18a Ferulate-5-Hydroxylase (F5H) (CYP84A)	1.14.13.X X	Ferulate + NADPH,H ⁺ + O ₂ - 5-hydroxyferulate + NADP ⁺ + H ₂ O	At4g36220, At5g04330
19 / 19a Caffeic Acid/5-Hydroxyferulic acid O-Methyltransferase (COMT)	2.1.1.68	Caffeate/5-hydroxyferulate + S-adenosyl-L-methionine - ferulate / sinapate + S-adenosyl-L-	At5g54160

			homocysteine	
20	Hydroxycinnamoyl CoA: Shikimate / Quinate hydroxycinnamoyltransferase (CST/QST)	2.3.1.33	p-coumaroyl-CoA + quinate / shikimate - p-coumaroyl-quinate / shikimate + coenzyme A	At5g48930
21	Cinnamoyl-CoA Reductase (CCR)	1.2.1.44	Hydroxycinnamoyl-CoA + NADPH, H ⁺ - hydroxycinnamaldehyde + NADP ⁺ + coenzyme A	At1g15950, At1g82820

تابع جدول (٦-٢) : إنزيمات تمثيل الفينيل بروبا نويد التي تؤدي إلى إنتاج أحماض هيدروكسي سيناميك ومقترناتها والجينات المرتبطة بها في نباتات أرابيدوبسيس .

Enzyme name	E.C number ¹	Reaction catalyzed	Representative Arabidopsis genes ²
2 Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase (CAD)	1.1.1.195	Hydroxycinnamaldehyde + NADPH, H ⁺ - hydroxycinnamyl alcohol + NADP ⁺	At1g72680, At3g19450, At4g34230
2 Hydroxycinnamoyl CoA - Tyramine hydroxycinnamoyltransferase	2.3.1.XX	Hydroxycinnamoyl-CoA + tyramine - hydroxycinnamoyltyramine + coenzyme A	Unknown in Arabidopsis
2 p-Coumaroyltyramine-3-hydroxylase (CT3H)	1.14.13.XX	p-coumaroyltyramine + NADPH, H ⁺ + O ₂ - caffeoyltyramine + NADP ⁺ + H ₂ O	Unknown in Arabidopsis
2 Caffeoyltyramine O-Methyltransferase (CTOMT)	2.1.1.XX	Caffeoyltyramine + S-adenosyl-L-methionine - feruloyltyramine + S-adenosyl-L-homocysteine	Unknown in Arabidopsis
2 Caffeoyl CoA: Quinate caffeoyltransferase (CQC)	2.3.1.99	Caffeoyl-CoA + quinate - caffeoylquinate + coenzyme A	Unknown in Arabidopsis

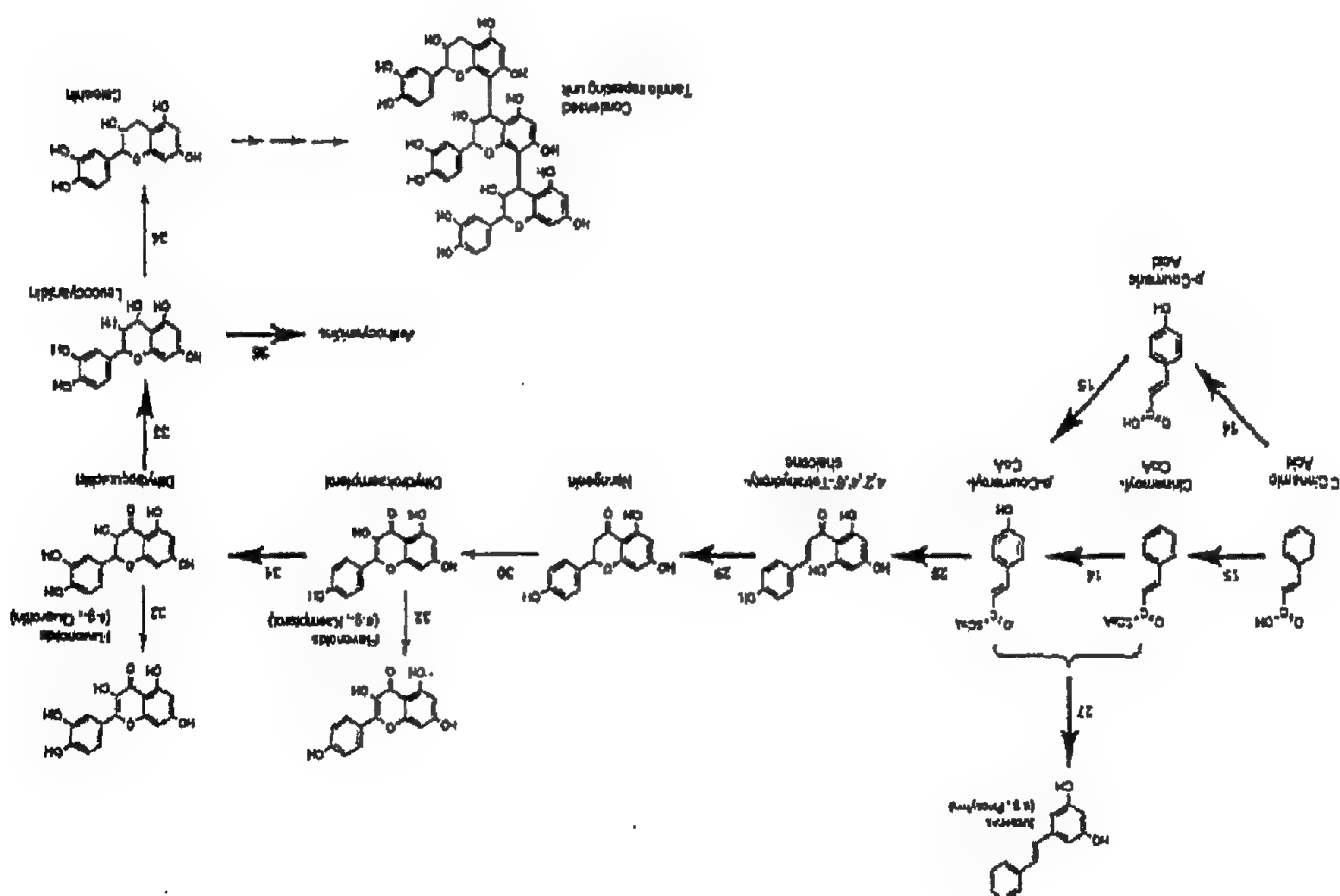
¹ Enzyme Nomenclature (web version) www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/

² Gene identifiers are from Ethling et al. 2005, Ralph et al. 2006, and The Arabidopsis Information Resource (TAIR) (www.Arabidopsis.org). Not all genes listed have been functionally characterized; nor are the lists considered complete.

³ Enzyme number refer to the corresponding reaction in Fig. 9.3.

من الناحية التاريخية فإن هيدروكسلة تحت تركيب بارا - كوماويل يحدث عند مستوى ثيوإستر - المرافق الإنزيمي A ولو أنه في منظومة تكوين المونوليجنول أوضح

أن هذا التفاعل يحدث بعد نقل الاستر للشيكيماوات أو الكوينات (Schoch et al, 2001).
بصرف النظر عن تكوين ثيواستر - المرافق الانزيمى A من خلال إنزيم ٤ - كومارويل
- ليجيز - مرافق إنزيم A (4CL) فإنها خطوة تنشيطية هامة . كما هو ثابت فإن
إنزيمات PAL و 4CL تمثل بواسطة عائلة جين فى النباتات مع مدى من جينات تشابه
4CL عرفت عبر تحليل التتابع المشابه وملاحظة نظام التنسيق فيها خلال اللجنة . من
بين هذه المنظومة فإن ١٥ من الجينات المشابهة 4CL / 4CL تحفز بواسطة الجروح
والتلف بواسطة السوس و / أو التلف من هجوم دودة البراعن فى صنوبر ستيكا . على
نفس المنوال فإن 4CL's تحفز بواسطة الجروح عند مستوى النسخ فى العديد من أنواع
النباتات الأخرى بما فيها البقدونس والدخان والتي تحمل أحد جينات البقدونس وعلى
المستوى الانزيمى فى درنات البطاطس (Bernards et al., 2000) .



شكل (٤-٦) : التخليق الحيوى للفلافونويدز والاستيلبينيز والثانينات المكثفة . العوامل المرافقة
والوسائط المرافقة غير موضحة . يمكن الرجوع للجدول (٦-٣) . الأسهم السوداء الثقيلة توضح خطوات
مخرجات تأثيرات الجروح / أو هجوم آكلات النباتات فى تحفيز التعبير الجينى و / أو النشاط الإنزيمى .
الإنزيمات هي :

(14) cinnamate 4- hydroxylase ; (15) 4- coumaroyl – CoA ligase ; (27) stilbene synthase ; (28) chalcone synthase ; (29) chalcone isomerase ; (30) flavonone 3- hydroxylase ; (31) flavonoid 3' – hydroxylase ; (32) flavonol synthase ; (33) dihydroflavonol 4- reductase ; (34) leucoanthoyanidin reductase ; (35) anthocyanidin synthase (leucoanthocyanidin dixxygenase). (Adapted in part from strack 1997 ; Croteau et al, 2000) .

إنزيم كومارات -٣- هيدروكسيليز (H_3 , Cyp 98 A) يحفز ويساعد في هيدروكسلة بارا - كومارات لتكوين إحلل حلقة كافويل (أورثو - ديهيدروكسي) الشائعة في العديد من الفينولات . كما هو الحال مع 4CL ونسخ CH_3H تحفز بواسطة الجروح والضرر من هجوم السوس و / أو الضرر بواسطة دودة البراعم في صنوبر سيتكا وتنظم بشكل كبير وتنسيق مؤازر خلال اللجنتة (Ehlting et al., 2005) . المثلة المتتابعة (كافويل - مرافق إنزيمي A - أوكسي - ميثيل ترانسفيريز ، Caffeyol - CoA -O- methyltransferase ; CCoAOMT and / or caffeic acid / 5- hydroxyferulic acid O- methyltransferase ; COMT) and 5- hydroxylation (ferulate -5- hydroxylase ; F5H ; CYP84AA) إنتاج guaiacyl – and syringul – subbstituted hydroxycinnamates عن طريق إتباع نظم تعبير مشابه بعد الجروح وحادث الضرر من أكالات النباتات (Reymond et al. 2004 أو خلال التطور (Ehlting et al ., 2005) . نتابعا فإن تكوين الفينيل بروبا نويدز مع نظم إحلل تقليدي للحلقة يسهل تحقيقه استجابة للجروح والضرر من قرض الحشرات للنسيج النباتي في نظام متناسق . هذا ولو أنه مع بعض الاستثناءات مع بعض التداخلات بين النبات والحشرة فإن أحماض هيدروكسي سيناميك نفسها لا تتراكم بوجه عام استجابة للتلف الذي تحدثه الحشرات أو الجروح ولكنها بدلا من ذلك تعمل كبادئات لمشتقات الفينيل بروبانويد الأخرى التي تعملها ومن ثم فإنه في هذا الخصوص فإن المنتجات النهائية الخاصة مع بعضها البعض والتمثيل المتميز تؤدي للحصول عليها وتفرق بين استجابات النباتات المختلفة للمنشطات البيئية بما فيها التلف من الحشرات .

جدول (٦-٣) : الإنزيمات المختارة لتخليق الفلافونويدز والاستيلبييز والجينات المشتركة في نباتات أرابيدوسيس .

Enzyme name	E.C number ¹	Reacton catalyzed	Representative Arabidopsis genes ²
2 7 3 Stilbene Synthase (STS)	2.3.1.146	Cinnamoyl-CoA + 3 malonyl-CoA – pinosylvlin + 4 coenzyme A + 4CO ₂	Unknown in Arabidopsis

28	Chalcone Synthase (CHS)	2.3.1.74	p-coumaroyl-CoA + 3 malonyl-CoA – naringenin chalcone + 4 coenzyme A + 3CO ₂	At1g02050, At4g00040, At4g34850, At5g13930
29	Chalcone Isomerase (CHI)	5.5.1.6	Naringenin chalcone – naringenin	At1g53520, At5g05270, At3g55120, At5g66220
30	Flavanone 3-Hydroxylase (FHT)	1.14.11.9	Naringenin + 2-oxoglutarate – O ₂ – dihydrokaempferol + succinate + CO ₂ + H ₂ O	At1g78550, At3g19000, At3g51240, At4g10490, At4g16330, At5g24530
31	Flavonoid 3'-Hydroxylase (F3H)	1.14.13.21	Dihydrokaempferol + NADPH,H ⁺ + O ₂ – dihydroquercetin + NADP ⁺ + H ₂ O	At5g07990
32	Flavonol Synthase (FLS)	1.14.11.23	Dihydrokaempferol/ dihydroquercetin + 2-oxoglutarate + O ₂ – kaempferol/ quercetin + succinate + CO ₂ + H ₂ O	At1g49390, At2g44800, At3g19010, At3g50210, At5g08640, At5g43935, At5g63580, At5g63950, At5g63595, At5g63600
33	Dihydroflavonol Reductase (DFR)	1.1.1.219	Quercetin + NADPH,H ⁺ – leucocyanidin + NADP ⁺	At5g42800
34	Leucoanthocyanidin Reductase (LAR)	1.17.1.3	Leucocyanidin + NADPH,H ⁺ – catechin + NADP ⁺ + H ₂ O	At1g61720
35	Anthocyanidin Synthase (ANS) (Leucoanthocyanidin Dioxygenase)	1.14.11.19	Leuco(antho)cyanidin + 2-oxoglutarate + O ₂ – anthocyanidin + succinate + CO ₂ + 2H ₂ O	At2g38240, At4g22880

¹ Enzyme Nomenclature (web version) www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/

² Gene identifiers are from Ethlting et al. 2005, Ralph et al. 2006, and The Arabidopsis Information Resource (TAIR) (www.Arabidopsis.org). Not all genes listed have been functionally characterized; nor are the lists considered complete.

³ Enzyme number refer to the corresponding reaction in Fig. 9.4.

تكوين الحواجز الطبيعية مثل اللجنين والسوبرين استجابة للجروح موثقة جيداً . واحدة من الخطوات الحرجة التي تشترك هياكل الكربون في تكون اللجنولات الأحادية (هياكل البناء الضرورية لكل اللجنين والسوبرين) تحفز بواسطة إنزيم سيتامول - مرافق الإنزيم A أوكسى ريدكتاز (CCR) الذي يختزل هيدروكسى مشتقات هيدروكسى سيتامول - مرافق الإنزيم A لأحماض هيدروكسى سيناميك لالدهيدات المقابلة (الشكل ٦-٣ والجدول ٦-٢) . هذا ولو أن CCR ينظم في تنسيق عالي مع الجينات الأخرى للخطوات المبكرة لتمثيل الفينيل بروبا نويدز خلال اللجننة فإنه يبدو وأن التنظيم المتدنى مع أكلات الأعشاب والبراعم والسوس . هذا التناقص الواضح يمثل مثال هام الذى فيه يكون فيه الجروح والحشرات التي تحفز الأنسجة النباتية غير متكافئة . بدلاً من ذلك فإن الهيدروكسى سينامات التي تنتج في صنوبر ستيكا بواسطة جينات التنظيم العالي للخطوات المبكرة في مسار الفينيل بروبا نويدز يبدو أنه يمثل في الفلافونويدز .

الجروح الميكانيكية تؤدي إلى تراكم العديد من مقترنات الهيدروكسى سينامول مثل حامض كلوروجينيك وأميدات هيدروكسى سينامول من البطاطس والطماطم . بالنظر للهيدروكسى سينامول تايرينامات موافق الإنزيم A إنزيم اثيرامين هيدروكسى سينامويل ترانسفيريز (HTH) أتضح أنها تحفز بواسطة الجروح التي تستخدم أيا من بارا - كوماويل - مرافق إنزيم A أو فيريويل - مرافق إنزيم A كما في مانح هيدروكسى سينامول (الشكل ٦-٣) . من المثير للدهشة أنه حتى مع خلال فيريويل ثيرامين يبدو أنه يغرس في أساس الفينول من سوبرين الجروح وهو مشتق البار - كوماويل التي تتراكم عندما يثبط تكوين الفينولات العديدة . لقد تم قياس إنزيم كوماترات -٣- هيدروكسيليز (C3H) الذي يستخدم بارا - كوماويل ثيرامين كوسيط في درنات البطاطس التي تشفى من الجروح . هذه النتيجة أكدت على الدور المركزي للبارا - كوماويل مرافق إنزيم A في تمثيل حامض هيدروكسى سيناميك وكذلك قوة استخدام الجروح التي تحفز الأنسجة سواء ميكانيكياً أو من جراء الإصابة بأكلات الأوراق كمصدر لاكتشاف الكيمياء الحيوية الجديدة .

٢-٣-٣- الفلافونويدز والتانينات

الفلافونويدز عبارة عن مركبات تحتوى على هيكل أجليكون من ١٥ ذرة كربون وتكون هياكل بناء التانينات المكثفة (الشكل ٦-٤ ، جدول ٦-٣) . المركب الأول في المسار هو ناراينجين جالكون (٢,٤ ، ٦,٤ - تتراهيدوركي كالكون) تتكون بواسطة تكثيف البار - كوماويل - مرافق إنزيم A مع ثلاثة جزيئات من مالونيل - مرافق إنزيم A الذي يحفز بواسطة إنزيم كالكون سينسيز (CHS) . الكالكون سينسيز يعتبر الإنزيم المحدد في مسار الفلافونويدز (Strock , 1997) وقد أتضح أنه يحفز عند كلا مستوى البروتين والنسخ بواسطة الجروح في الصنوبر النرويجي والأبيض على التوالي

وكذلك عند مستوى النسخ بواسطة الجروح والإصابة بالسوس وحشرة البراعم في صنوبر ستيكا . من المثير للدهشة أن إنزيم ستيلين سينسير الذى يساعد فى نفس تفاعل التكثيف مثل CHS ولكنه يؤدى إلى اختلافات فى الانتشاءات والحلقة المتتابة لإنتاج ستيلينويدز (مثل بينوسلفين - الشكل ٦-٤) وهو يحفز كذلك على مستوى البروتين بواسطة الجروح فى الصنوبر النرويجى وعند مستوى النسخ بواسطة الجروح والإصابة بالسوس أو دودة البراعم فى صنوبر ستيكا . يفترض أن التخليق المشترك للاستيلينات والتانينات المكثفة (من الفلافونويدز المشتقة مع CHS) تمثل الاستجابة الأكيدة الراسخة لكلا الحشرات المطرودة ومنع مسببات الأمراض النباتية من تثبيت نفسها مع الأنسجة المجروحة .

نارينجينين كالكولون تتحول إلى نارينجينية عبر غلق الحلقة فراغياً بشكل متخصص وخطوة المشابهات التى تحفز بواسطة إنزيم كالكولون أيزوميريز (CHI) . نسخ إنزيم كالكولون أيزوميريز يحفز بواسطة الجروح وهجوم السوس و / أو دودة البراعم فى صنوبر ستيكا . المال التمثيلي للنارينجيسين ذات أهمية فى تفريع التخليق الحيوى للفلافونويدز مما يعطى الفلافونولات (مثل كامبيترول ، كوبركتين) ديهيدروفلافونولز (مثل ديهيدروكامبينيول ، ديهيدروكوپريكيتين) والأيزوفلافونويدز (مثل جينستين) والفلافونات (مثل أبيجينين) يشار لهذه المركبات على أنها فلافونويدز . هذا ولو أنه أتفق على أن الفلافونويدز نفسها ذات تأثيرات طاردة على الحشرات الآكلة للنباتات (Treutter 2005) ، وهى ليست دائمة كما فى التانينات المكثفة بالنظر للتداخلات بين النبات والحشرة .

التانينات المكثفة يطلق عليها بروانثوسيا نيدنيات وتتكون من ارتباط تكافؤى للفلافان ٤-أولز (مثل كاتيكن) و / أو فلافان ٤,٣ - ديولز (الشكل ٦-٤) . فى صنوبر ستيكا فإن النسخ لخطوات عديدة فاتحة فى تكوين (+) - كاتيكن (المونومير المكثف الرئيسى للتانين) يحفز مرات عديدة بواسطة الجروح و / أو الإصابة بالسوس أو الإصابة بدودة البراعم . هذه تشمل إنزيم فلافونويد ٣ - هيدوركسيليز (إنزيم Cyp 75B1 الذى يحل مائياً ديهيدروكيمبيفول لإنتاج ديهيدروكوپرسكتين) وإنزيم ديهيدروفلافونول ٤-ريدكتاز . هذا الجين الأخير الذى يشطر للإنزيم الذى يساعد على اختزال ٤ - كيتون للتركيب فى حلقة الديهيدروفلافونول لإنتاج فلافان ٤,٣ - ديول ليكوسيانيدين وهذه تمثل خطوة محددة فى تكوين التانينات المكثفة . أوضح الباحثان Peter and Constadel عام ٢٠٠٢ أنه (بالإضافة إلى تراكم التانينات المكثفة) فإن الإصابة بآكلات العشب تحفز تعبير هذا الإنزيم . إنزيم ديهيدروفلافونول ٤-ريدكتاز يساعد فى إتمام الخطوة قبل الأخيرة فى المسار لتكثيف التانينات وهى الخطوة الأخيرة المعروفة والتى تحول ليكو (أنثو) سيانيدين إلى (+) - كاتيكن والذى يحفز بواسطة إنزيم ليكو أنثوسانيدين ريدكتاز. لا توجد تقارير تشير إلى أن هذا الإنزيم يحفز بواسطة الجروح أو هجوم آكلات

النباتات . على نفس المنوال فإن الخطوة المحددة لتحول نارينجينين إلى ديهيدروكيمبثيرون والتي تحفز بواسطة فلافونون ٣- هيدروكسيليز (٢- أوكسوجلوكتورات - الذى يعتمد عليه إنزيم ديوكسيجينيز) لا يبدو أنه يحفز . يبدو أن هناك نشاط تكوينى كافى لهذه الإنزيمات الفاتحة والآخر هام كذلك فى تكوين الفلافونويدز الأخرى لتعويض التراكم المحفز بالجروح وهجوم آكلات العشب . من المثير للاهتمام أنه فى صنوبر سيتكا الذى يستجيب للجروح والسوس ودودة البراعم يحدث تحفيز لجين إنزيم أنثوسيانيدى سينسيز (ليكو أنثوسيانيدى ديوكسيجينيز) . الإنزيم الناتج من هذا الجين يحفز الخطوة الأولى فى تكوين مركب الأنثوسيانيدى من الليكوسيانيدى ومن ثم يمثل بديل لهياكل الكربون اللازمة للتخليق الحيوى للتانينات .

References

- Arnold T, Appel H, Patel V, Stochum E, Kavalie A, Schultz J (2004) Carbohydrate translocation determines the phenolic content of *Populus* foliage: a test of the sink-source model of plant defense. *New Phytol* 164:157-164
- Barbehenn RV, Jones CP, Karonen M, Salminen J-P (2006) Tannin composition affects the oxidative activities of tree leaves. *J Chem Ecol* 32:2235-2251
- Brignolas F, Lacroix B, Lieutier F, Sauvard D, Drouet A, Claudot A-C, Yart A, Berryman AA, Christiansen E (1995) Induced responses in phenolic metabolism in two Norway spruce clones after wounding and inoculations with *Ophiostoma polonicum*, a bark beetle-associated fungus. *Plant Physiol* 109:821-827
- Cottle W, Kolattukudy PE (1982) Biosynthesis, deposition, and partial characterization of potato suberin phenolics. *Plant Physiol* 69:393-399
- Dixon RA, Paiva NL (1995) Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7:1085-1097
- Dyer WE, Henstrand JM, Handa AK, Herrmann KM (1989) Wounding induces the first enzyme of the shikimate pathway in Solanaceae. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:7370-7373
- Eltard-Ivey M, Douglas CJ (1996) Role of jasmonates in the elicitor and wound-inducible expression of defense genes in parsley and transgenic tobacco. *Plant Physiol* 112:183-192
- Gatehouse JA (2002) Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. *New Phytol* 156:145-169

- Gorlach J, Raesecke HR, Rentsch D, Regenass M, Roy P, Zla M, Keel C, Boller T, Amrhein N, Schmid J (1995) Temporally distinct accumulation of transcripts encoding enzymes of the prechorismate pathway in elicitor-treated, cultured tomato cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:3166-3170
- Humphreys JM, Chapple C (2002) Rewriting the lignin road map. *Current Opin Plant Biol* 5:224-229
- Korth KL, Dixon RA (1997) Evidence for chewing insect-specific molecular events distinct from general wound response in leaves. *Plant Physiol* 115:1299-1305
- Leitner M, Boland W, Mithofer A (2005) Direct and indirect defenses induced by piercing-sucking and chewing herbivores in *Medicago truncatula*. *New Phytol* 167:597-606
- Malmberg A (1984) N-Feruloylputrescine in infected potato tubers. *Acta Chem Scand B* 38:153-155
- Negrel J, Pollet B, Lapierre C (1996) Ether-linked ferulic acid amides in natural and wound periderms of potato tuber. *Phytochemistry* 43:1195-1199
- Olson MM, Roseland CR (1991) Induction of the coumarins scopoletin and ayapin in sunflower by insect-feeding stress and effects of coumarins on the feeding of sunflower beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environ Entomol* 20:1166-1172
- Pearce G, Marchand PA, Griswold J, Lewis NG, Ryan CA (1998) Accumulation of feruloyltyramine and p-coumaroyltyramine in tomato leaves in response to wounding. *Phytochemistry* 47(4):659-664
- Qiuju Q, Xueyan S, Liang P, Xiwu G (2005) Induction of phenylalanine ammonia-lyase and lipoxygenase in cotton seedlings by mechanical wounding and aphid infestation. *Prog Nat Sci* 15(5):419-423
- Razal RA, Ellis S, Singh S, Lewis NG, Towers GHN (1996) Nitrogen recycling in phenylpropanoid metabolism. *Phytochemistry* 41:31—36
- Richard S, lapointe G, Rutledge RG, Seguin A (2000) Induction of chalcone synthase expression in white spruce by wounding and jasmonate. *Plant Cell Physiol* 41(8):982-987
- Santiago R, Butron A, Arnason JT, Reid LM, Souto XC (2005) Free phenols in maize pith and their relationship with resistance to *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) attack. *J Econ Entomol* 98(4):1349-1356

- Strack D (1997) Phenolic metabolism. In: Dey PM, Harborne JB (eds) Plant biochemistry. Academic Press, New York, pp 387-416
- Treutter D (2005) Significance of flavinoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. Plant Biol 7:581-591
- Van Heerden PS, Towers GHN, Lewis NG (1996) Nitrogen metabolism in lignifying Pinus taeda cell cultures. J Biol Chem 271:12350-12355
- Walling LL (2000) The myriad plant responses to herbivores. J Plant Growth Regul 19:195-216
- Zangler AR (1990) Furanocoumarin induction in wild parsnip: evidence for an induced defense against herbivores. Ecology 71:1933-1940

ثالثاً : الدفاع بواسطة الكالويدز بيروليزيديين : الذى يتكون بواسطة النباتات
ويطوع بواسطة الحشرات

**Defense by Pyrrolizidine Alkaloids : Developed by Plants and
Recruited by Insects**

Thomas Hartmann and Dietrich Ober

الكالويدز البيروليزيديين تعبر عن مركبات ثانوية سامة فى النباتات مع حدوث متقطع فى عائلات البذور بعيدة الارتباط عن بعضها . النواحي الفسيولوجية والايكولوجية لدورها فى الدفاع ضد آكلات الأوراق نوقشت فى محافل كثيرة . فى أنواع Senecio يتم تخليق سينسيونين ن - أكسيد كتركيب أساسى هيكلى فى الجذور وتوزع خلال اللحاء فى جميع النبات وتتووع بواسطة تفاعلات طرفية تؤدي إلى إنتاج أنواع أو نظم أو بروفيلات من الالكالويدز الخاصة بالنوع . فيما عدا التنوع التركيبى فإن الالكالويدز لا تظهر أى تحول أو انهيار . الالكالويدز تتحرك مكانياً وتتكون ببطء وتتراكم عند مواقع هامة استراتيجياً من الناحية الدفاعية مثل العنقود الزهرى والأنسجة الخاصة بالبشرة . بناء على النشوء الجزيئى للإنزيم الخاص فى المسار الأول توفرت أدلة تشير إلى أن مسارات الكالويدز البيروليزيديين تنشأ باستقلالية فى مختلف كاسيات البذور . الكالويدز البيروليزيديين من الأمثلة التى درست جيداً فى نظام دفاع النبات الذى يطوع بواسطة الحشرات آكلة النباتات . العديد من الحشرات المختلفة المتكيفة تعزل الالكالويدز وتستغلها لحماية نفسها ضد المفترسات والمتطفلات . بعض حرشفيات الأجنحة المتكيفة Arctiids اختيرت كى تمثل التكامل الخاص لنظام الدفاع النباتى فى بيولوجى الحشرة . هذا التكامل يتضمن التميز الحسى والاستخدام الفعال لمصادر الالكالويدز النباتية وكذلك صيانة ووضع الالكالويدز فى حالة غير سامة وآمنة تمثيلاً . هذا التكيف البيوكيميائى يؤكد الدور المميز للالكالويدز فى سلوك الحشرة كما فى حالات نقل الالكالويدز التى تضمن حماية البيض من الذكر والأنثى بواسطة تغطيته بمركبات الالكالويدز من كلا الأبوين .

١- مقدمة

الكالويدز البيروليزيدين (Pas) عبارة عن قسم من مركبات الدفاع التركيبية فى النباتات ضد آكلات العشب (Hartmann and Oler , 2000) . السؤال المطروح فى هذا المقام . لماذا نعى بالدفاع التركيبى فى كتاب يتناول الدفاعات النباتية المحفزة ؟ الإجابة أن هناك أسباب جيدة لهذا التناول . فى البداية نقول أنه فى الدفاعات الكيميائية فإن الحد الفاصل بين الدفاعات التكوينية والمحفزة غير قاطع وحتى الالكالويدز مثل النيكوتين يعبر عنها تكوينياً عند مستوى معين والذي يكون تحت ضغط الإصابة بآكلات النباتات يعزز بواسطة التخليق المحفز . ثانياً فإنه مع مقارنة الدفاعات الجارية فإن الدفاعات المحفزة أقل تكلفة بسبب تكاليف التمثيل القليلة والسماح بتراكم المستويات العالية لمركبات الدفاع . الدفاعات التكوينية تعتبر أكثر قدماً وتقدم الأساس لنشوء الدفاعات الفعالة المحفزة تنظيمياً . بقاء آكلات النباتات الحشرية تعتمد على قدرته على التوافق مع وسائل النبات المناهضة لآكلات العشب . بالنسبة لآكل العشب الذى يتحول لعائل نباتى جديد يكون من الأسهل عليه التكيف مع وسائل الدفاع السابقة عما هو الحال مع المحفزة . بعض آكلات النباتات التى تكيفت بنجاح مع الدفاع النباتى التكوينى تتمكن من التكيف مع نظام الدفاع النباتى لفائدتها . خلفيات التكيف بين الحشرة والنبات تقدم رؤى عن قدرات الحشرات على تكامل وسائل الدفاع النباتية فى بيولوجيتها .

T. Hartmann

Institute of Pharmaceutical Biology , Technical University of Braunschweig , D- 38106 Braunschweig , Germany .

A. Schaller (ed.) , Induced Plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008.

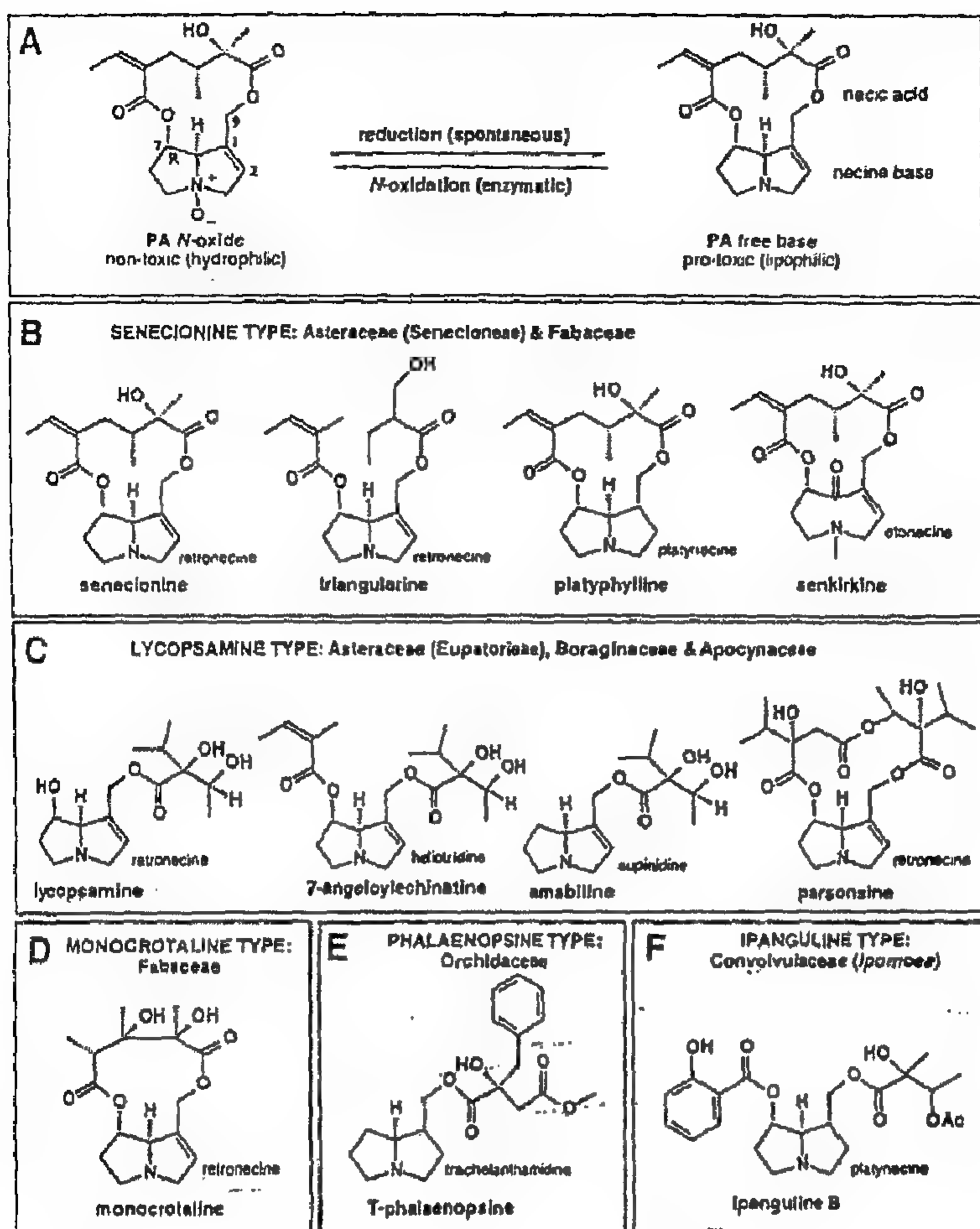
٢- الكالويدز بيروليزيدين النباتية

٢-١- أنواع الحدوث والتركيب

حدوث Pas مقيد على كاسيات البذور . لقد وجدت متقطعة وفى الغالب متوزعة فى عائلات بعيدة الارتباط . من المصادر المعروفة قبائل Eupatorieae , Senecioneae لعائلة Astaraceae والعديد من أجناس Boraginaceae . فى عائلة Fabaceae توجد Pas فقط فى قبيلة Crotalariae حيث تحل محل الكالويدز الكوينوليزيدين (Wink and Mohamed , 2003) . فى داخل قبائل Apocynaceae , Orehidaceae معروف

وجود أجناس قليلة تحتوى على PAs بينما فى قبيلة Convolvulaceae توجد PAs فقط فى قليل من الأنواع المرتبطة (Jenett-Sikmg et al., 2005) .

PA's تتميز بغنى فى التنوع فيما يقارب ٤٠٠ مركب . بالرغم من تنوعها إلا أنها تشترك فى خاصية واحدة شائعة فيما بينها ألا وهى أنها عبارة عن إستر الكالويدز يتكون من قاعدة نيسين تؤستر إلى واحد أو أكثر من أحماض نيسيك (شكل ٥-٦) . جميع قواعد النيسين مشتقات من كحول الأمينو ثنائى الحلقات ، ١- هيدروكسى ميثيل بيروليزدين . أحماض نيسيك تمثل أنواع من السلاسل الأليفاتية المعقدة وأحماض عطرية أقل وفرة . غالبية PA's المعروفة ترجع إلى النوع Senecionine (الشكل ٥-٦ B) أو النوع Lycopsamine (الشكل ٥-٦ 1C) . الأول وجد أساساً فى عائلة Asteraceae والقبيلة Senecioneae والنوع الأخير يقع فى العائلات والقبائل الثلاثة Asteraceae وقبيلة Eupatorieae و Boraginaceae و Apocynaceae . PAs من النوع Senecionine تمثل مركبات ثنائية الاستر ذات الحلقية العملاقة التقليدية التى تصاحب عرضياً الاسترات الثنائية ذات السلسلة المفتوحة المرتبطة مثل مركب Triangularine (الشكل ٥-٦ 1B) . PAs من النوع Lycopsamine عبارة عن استرات أحادية ذات سلسلة مفتوحة أو ثنائية الاسترات تحتوى على وحدة واحدة على الأقل من ٢- أيزوبروميل - ٣,٢ - دايهيدروكسى بيوتيرات ، حمض necic - C7 المتميز والذى يحدث فى الطبيعة حصرياً فى PAs . فى عائلة Apocynaceae وجدت PAs كاسترات ثلاثية ضخمة الحلقات مثل Parsonsine (الشكل ٥-٦ 1C) . فى كلا النوعين من PA's فإن الرترونييسين هو قاعدة النيسين السائدة ولكنها عرضياً يحدث أحياناً بواسطة نيسينات أخرى. من الصفات المميزة الأخرى لمركبات PA's أنها توجد فى العائلات استرايسى ، بورا جينيسى والفابيسى كأكاسيد نيتروجينية قطبية والتى بدورها يسهل اختزالها تلقائياً للشوارد الحرة المقابلة . استرات أوتوينسين فقط مثل Sinkirkine (الشكل ٥-٦ 1B) الذى لا يمكن أكسدته بالنيتروجين يوجد كشوارد حرة . أنواع Apocynaceae يبدو أنها تحتوى PA's على صورة شوارد حرة فقط . عائلات Orchidaceae و Convolvulaceae تحتوى فقط على PA's مع شوارد ١,٢ - نيسين المشبعة (الشكل ٥-٦ 1E , F) . هذه PA's توجد إما على صورة شوارد حرة كما فى عائلة Convolvulaceae أو على صورة مخاليط من الشوارد الحرة وأكاسيدها النيتروجينية كما فى الأوركيد (Frolich et al., 2006) .



شكل (٥-٦) : أنواع التركيب الكبرى لالكالويدز البيروليزيدين (PAS) التي تحدث طبيعياً في النباتات .
(A) في العديد من النباتات توجد PAS على صورة أكاسيد نيتروجينية قطبية غير سامة والتي يسهل اختزالها منتجة القاعدة الحرة ذات السمية الأولية . (B) النوع سينسيونين يمثل القسم الأكبر من البيروليزيدين عملاقة الحلقة . (C) النوع ليكوبسامين يمثل القسم الأكبر للاسترات الأحادية والداي استرات مفتوحة السلسلة . النوع مونوكروتالين يحدث فقط في عائلة Fabaceae , E. F. الفالينويسين وايبا بخلورالين تمثل ١ و ٢ PAS المشبعة.

٢-٢ - السمية Toxicity

النباتات المحتوية على البيروليزيدين الكالويدز يحتمل أن تكون من أكثر النباتات الشائعة السامة التي تؤثر على الدواجن والماشية والحياة البرية والإنسان , Prakash , Cheeke 1998 et al., 1999 . السمية المحفزة بواسطة PAS درست باستفاضة في الفقاريات . PAS مع ١,٢ - رابطة زوجية فقط في النيسين لها شق مثل ريتونيسين

والهليوتريدين والسوينيدين والأوتونيسين (الشكل ٦-٥) ذات سمية كبيرة ولكنها تنشط تمثيلاً لإحداث السمية . توجد ثلاثة مسارات تمثيلية أساسية لتمثيل ٢,١ - PAs غير مشبعة في الفقاريات (Fa et al., 2004 - الشكل ٦-٦) :

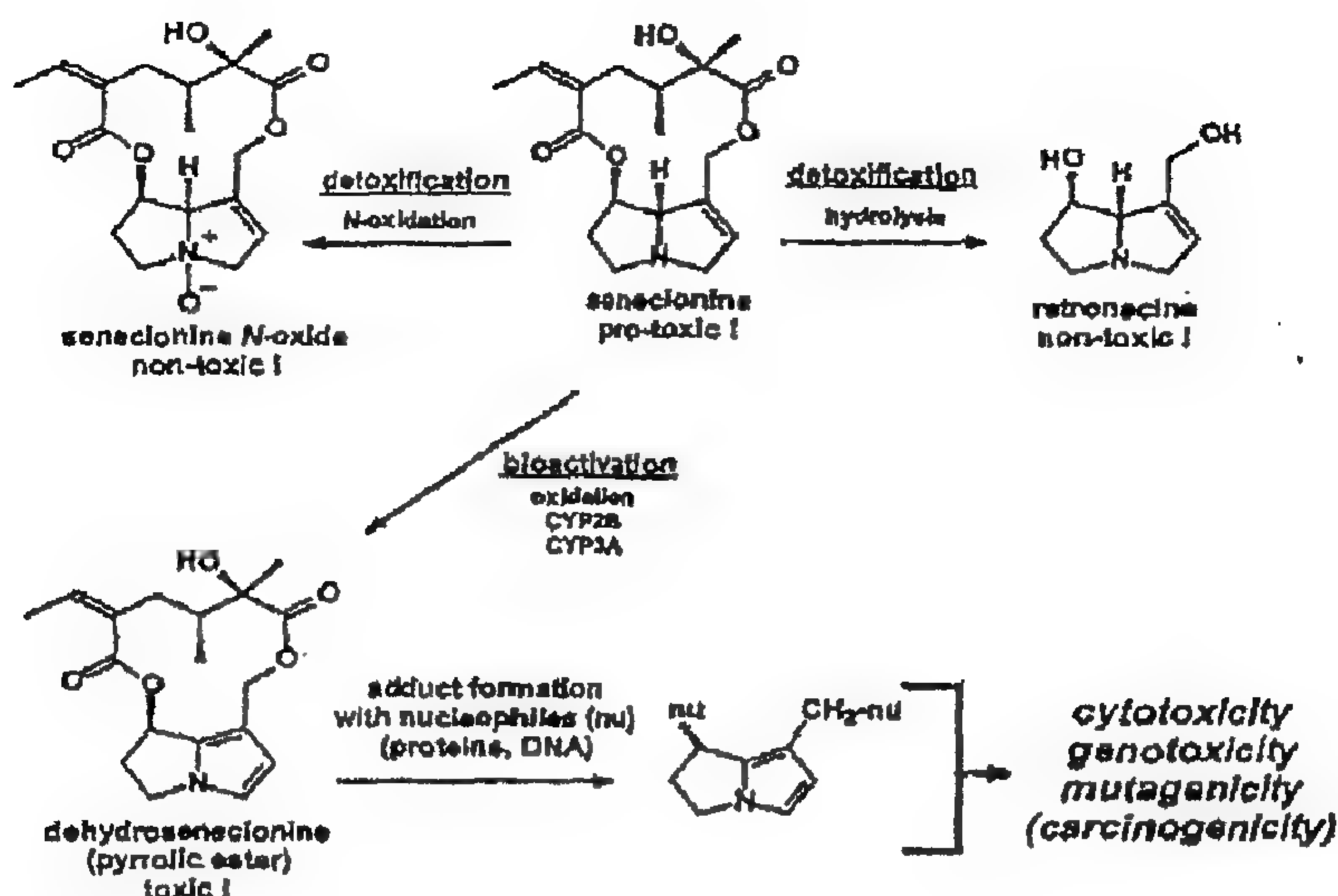
١- التحلل المائي لروابط الاستر منتجاً شارد النيسين الحر .

٢- الأكسدة النتروجينية للشارد الحر .

٣- أكسدة شارد النيسين إلى مشتق ديهيدروبيروليزيدن (استر بيرولييك) والتحلل المائي والأكسدة N- تعتبر مسارات فقد السمية حيث أن تكوين ديهيدروبيروليزيدن يخلق وسائط نشطة تقوم وبسهولة بتكوين قنوات لمحبي النواة الحيوية مما يؤدي لحدوث سمية خلوية شديدة (الشكل ٦-٢) . في الفقاريات فإن هذا التنشيط الحيوي يعال بواسطة المونواكسجينسيز سيتوكروم ٤٥٠ الكبدى وخاصة صور المشابهات , Cyp 28 (Huan et al., 1998 a) . في Cyp3A المونواكسجينسيز فلافين عديد الوسائط وبدرجة أقل إنزيمات P450 تشترك في فقد السمية لمركبات PAs لأكاسيد النتروجين المقابلة .

في الحشرات آكلات النباتات فإن التنشيط الحيوي لمركبات PAs بالمقارنة بما هو موجود في الفقاريات وحيث أن الحشرات تملك مدى غنى من إنزيمات P450 التي تشترك في تمثيل المواد الغريبة والسمية الحادة في تطور يرقات *Philosamia ricihi* (Saturniidae , Narberhaus et al., 2005) .

العديد من النباتات تخزن أكاسيدها النتروجينية غير السامة . هذا ولو أن أى حيوان فقارى أكل النباتات أو حشرة تتغذى على هذه النباتات تمتص PAs كشارد حر سام أولياً في خفض محتويات المعدة من أى أكسيد نتروجين تم تناوله وتحويله بسهولة إلى شارد حر مقابل . لذلك فإن أكل النبات غير المتكيف كلاهما يتكون كسم أولى . مركبات PAs تعاني من نقص ٢,١ - رابطة زوجية وليس لها ميل للتنشيط الحيوي (Fu et al., 2004) ومن ثم تعتبر غير سامة .



شكل (٦-٦) : فقد سمية الكالويدز البيروليزيدين ٢,١ - غير مشبع ذات السمية الأولية في الفقاريات وتحولها إلى وسائط البروليك السامة بواسطة التنشيط الحيوي المعال بالسيتوكروم - ٤٥٠ .

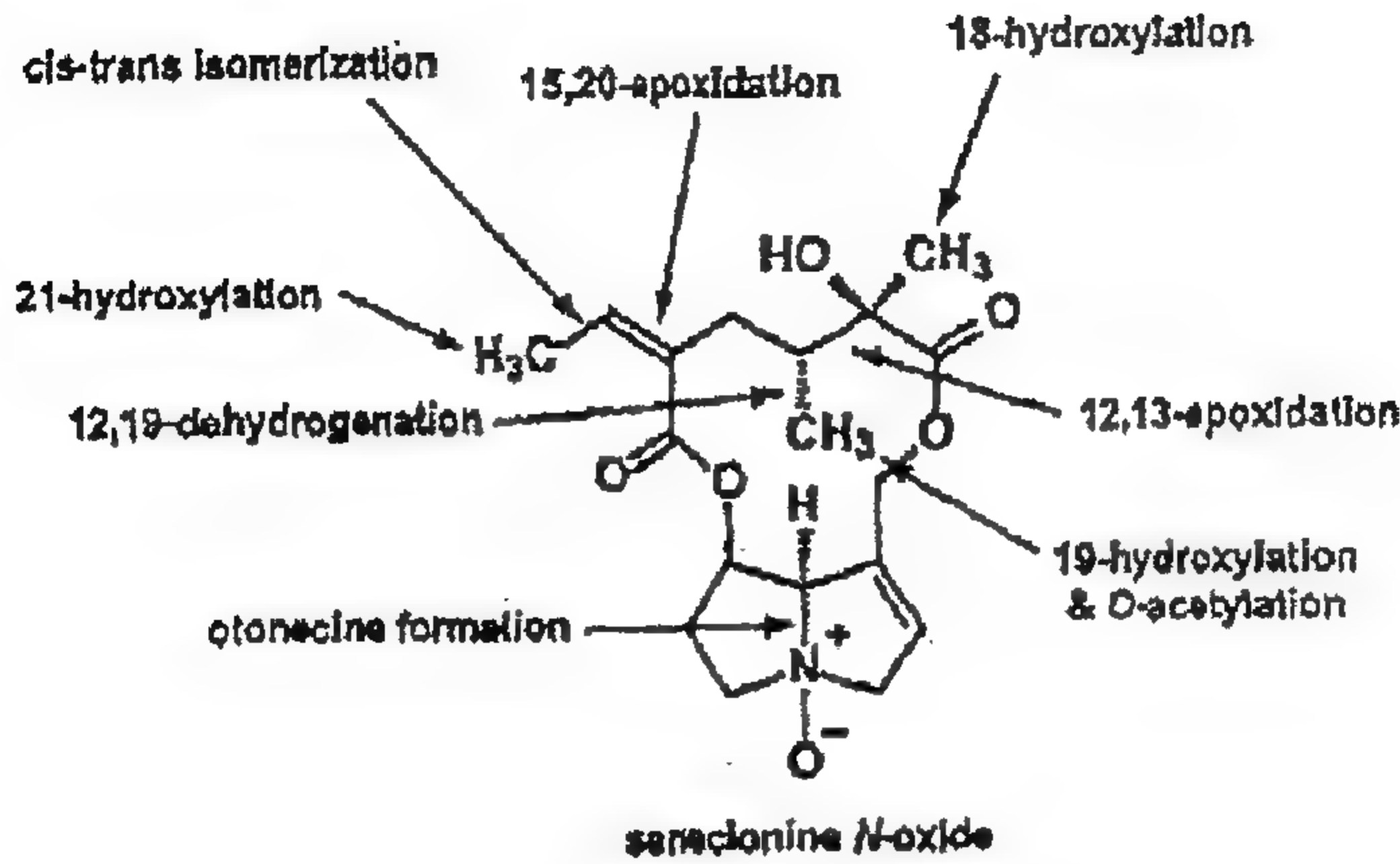
٢-٣- ملامح الدفاع الكيميائي التكويني : النواحي الفسيولوجية

المتطلبات الأساسية للدفاع التكويني بسيطة : مركب أو مركبات الدفاع يجب أن تتراكم بثبات في الأنسجة المستهدفة بالتركيزات المطلوبة لمنع الضرر بواسطة أي مضاد مثل أكل النبات الحشري . مركبات PAS تغطي هذه المتطلبات بوجه عام : تتراكم بكميات كافية كما أنها ثابتة تمثلياً حيث أنها لا تظهر أي انهيار . هذا ولو أن PAS تتحرك مكانياً وتحمل من مواقع تخليقها إلى مواقع تراكمها حيث تتركز داخل التجاويف الخلوية (Ehmke et al., 1988) . هذه الخصائص التمثيلية عرفت في أنواع Senecio التي تخلق سينيسيونين ن - أكسيد كهيكل تركيب لمركبات PA في الجذور . سينيسيونين - ن - أكسيد تتوزع خلال اللحاء في جميع أجزاء النبات وهي تتنوع كيميائياً لإنتاج أنماط PAS ذات التنوع الخاص . في داخل الجذور فإن التخليق الحيوي لمركبات PA يكون مقيداً على خلايا خاصة كما هو موثق بواسطة وضع المناعة لإنزيم هوموسبيرميدين سينسيز وهو الإنزيم الفاتح في التخليق الحيوي لمركبات PA . في نباتات Senecio فإن هذه الخلايا تتضمن مجموعات من خلايا الاندودرم والخلايا المجاورة لبرانشيما القشرة تقع مباشرة معاكسة للحاء (Moll et al., 2002) . في الأنواع الأخرى

التي تنتج PA فإن مواضع تخليق PA قد تكون مختلفة . فى نباتات Eupatorium فإن التخليق الحيوى لمركبات PA يحدث فى جميع خلايا برانشيمة القشرة فى الجذور (Anke et al., 2004) بينما فى نباتات Phalaenopsis فإن تخليقه يكون مقيداً مع قمة الجذور الهوائية . فى نباتات عائلة Boraginaceae فإن موضع التخليق قد يختلف من نوع لآخر كما فى : الجذور فقط (Symphytum officinale) والسيقان فقط (Heliotropium indicum) أو فى السيقان والجذور (Cynoglossum officinale) . هذا يوضح أن مركب الدفاع التكويني ليس هو موقع التخليق فى كل حالة بحالتها ولكن موضع التراكم هو المصبب النهائي الأكثر أهمية .

على غرار المركبات الثانوية الأخرى فإن التنوع الكيميائى والتباين من الصفات التقليدية لمركبات PA's . كل نوع يتميز ببروفيله الخاص لمركبات PA وقد لوحظ تباينات كبيرة نوعية وكمية بين مجاميع العائلات النباتية . من الأمثلة التى درست جيداً مجاميع Senecio Jacobaea و Senecio erucifolius (Witte et al., 1992) . لقد درس التنوع التركيبى باستخدام خمسة أنواع من Senecio مع تباين بروفيلات PA لها . جميع الأنواع تقوم بتخليق سينسيونين ن - أكسيد كتركيب هيكلى حيث تتنوع بواسطة خطوة أو خطوتان فى التحويل (الشكل ٦-٧) . هذه التفاعلات تؤثر أساساً على شق حامض نيسيك وهى تشمل فقد الأيدروجين Dehydrogenations وكذلك الهيدروكسلة ذات المواقع المختلفة المتخصصة Hydroxylation والأكسدة الفائقة Cpxoxidations والأسئلة التأكسدية O - acetylations هذه التفاعلات الطرفية Peripheral reactions تتقدم ببطء وفى الغالب تختلف فى الفاعلية بين أعضاء النبات . لذلك فإن بروفيل PA لاي نبات يكون نتيجة للتوازن الحركى لعدد من العمليات المتداخلة مثل معدل الإمداد والتزويد لمركب سينسيونين ن - أكسيد الجديدة المخلقة وتخصصية وكفاءة التحولات وسرعة الترسيب وفى النهاية التخزين فى النسيج أو الخلايا الخاصة . أى تغير وراثى يؤثر على كفاءة واحد من التفاعلات الطرفية سوف يحور بشكل كبير بروفيل PA دون أن يؤثر على كميته الشاملة . الكمية الكلية لمركبات PA النباتية تحدد حصرياً بواسطة مدى التكوين الخاص لمركب سينسيونين ن - أكسيد . هذا السيناريو للميكانيكية يشرح التباين الكبير لبروفيلات PA بين المجاميع ثم تعضيده من خلال دراسات أخرى . التحليل الوراثى لنبات S.jacobaea توضح أن التباين الفينولوجى الكبير المجاميع فى كلا المحتوى الكلى لمركبات PA وبروفيلات P النوعية لأربعة وعشرون نوعاً من نبات Senecio من القسم Jacobaea بناء على أقصى شح كلادوجرام ينشأ من تتابع الحمض النووى DNA وبيانات الشكل الظاهرى (Pelur et al., 2005) فإنه يودى إلى التوزيع العرضى لستة وعشرون من PAS المرتبطة من الناحية الحيوية الوراثية داخل الكساء الكلى . الاختلافات فى بروفيلات PA لا تفسر عن طريق اكتساب

أو فقد الجينات الخاصة خلال النشوء ولكن من خلال غلق وفتح التعبير الجيني الانتقالي . من الواضح أن الأنواع قادرة على نظم اللخبطة العشوائية للسينيونيون والمشتقات من المجموع الوراثي للكساء ومن ثم يخلق بروفيلات PA ذات تنوع مختلف ومتباين .



شكل (٦-٧) : تنوع سينيونيون - ن - أكسيد بواسطة تفاعلات طرفية ذات خطوة واحدة أو خطوتان منتجة بروفيلات مختلفة من أنواع خاصة في أنواع نباتات Senecio .

٢-٤- ملامح نظام الدفاع التكويني : النواحي الإيكولوجية

كما هو الحال مع معظم التوكسينات النباتية فإن مركبات PAs ذات طعم لاذع للإنسان كما أنها طاردة أو مانعة قوية للتغذية للفقاريات واللافقاريات (Boppre, 1986). هذا ولو أن وجود دليل مباشر عن وظيفتها الدفاعية في النباتات مازال غير موجود أو نادر الوجود . على عكس الدفاع المحفز حيث أن السبب (الهجوم) والتأثير (تكوين مركب دفاعي) في منتهى الوضوح فإنه يمكن الحكم على الدفاع التكويني فقط بواسطة غياب أو وجود آكلات النباتات المؤثرة . لذلك فإن الدليل الذي يعضد وظيفة PAs في دفاع النبات يكون في الغالب غير مباشر . من أحد خطوط الدليل غير المباشر هو التراكم في نسيج خاص لمركبات PAs . في الغالب تظهر الأزهار أعلى تركيزات من PA كما أتضح مع نباتات Senecio وكذلك هيليوثروبيوم وفالينوبسيس (Orchidaceae) . في عينات الأزهار كانت كميات PAs المرتبطة بتكوين العناقيد الزهرية تصل إلى ٥٠ - ٩٠% من الكمية الكلية لمركبات PAs مما يوضح حماية فعالة لمعظم أعضاء التكاثر النباتية . في أوراق الورد C.officinale وجد أن الأوراق الأصغر تحتوي حتى ١٩٠ مرة أعلى من مستويات PA عن الأوراق العجوزة . الحشرات العامة آكلات الأوراق تتغذى فقط الأوراق القديمة الفقيرة في محتوى PA بينما آكلات الأوراق الخاصة

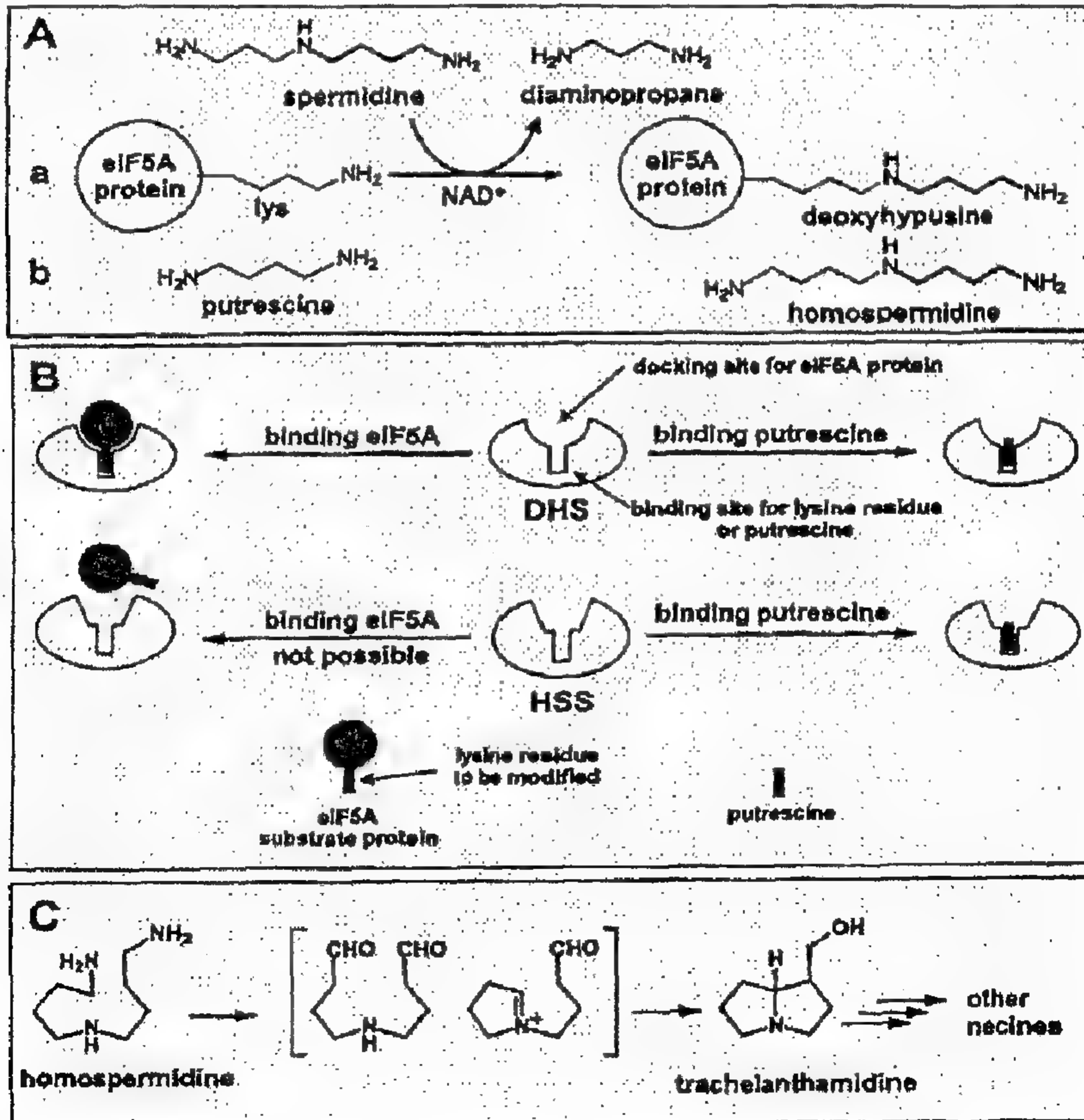
تكتيفت مع PA حيث تفضل الأوراق الصغيرة الغنية بالبروشين (Van Dam et al., 1995a). في السوق الخضراء للأنواع العشبية مثل Senecio فإن مركبات PAs تتراكم بشكل أفضل في طبقات الخلايا الطرفية وهي توجد حتى في كميات ضئيلة على سطح الورقة . مرة أخرى فإن الأنسجة الصغيرة ذات القيمة الوظيفية وكذلك كما في الأنسجة الطرفية التي تقدم التلامس الأول لآكل النبات تكون مجمعة جيداً . هناك خط آخر من الدليل غير المباشر يوضح دور لفاعلي لمركبات PA ألا وهو التنوع الكيميائي والتباين الكبير في بروفيل PA. تأثير مركبات PAs النقية على خمسة آكلات أعشاب عامة حشرة أظهرت أن PAs المرتبطة تركيبياً تختلف في تأثيراتها الطاردة وكذلك يمكن أن تعمل تنشيطياً إذا استخدمت في مخاليط (Macel et al., 2005) هذه النتيجة أخذت كموضوع للمناقشة لتوضيح أهمية آكلات العشب العامة على نشوء وصيانة تنوع PA . لقد تحصل على دليل آخر من ملاحظة أن التوزيع الجغرافي لبعض الأنواع الكيميائية للنوع S. jacobaea أظهر بوضوح أنها لا ترتبط بالأسلاف الشائعة ولكن ترجع إلى تشابه الضغط الانتخابي مثل آكلات الأعشاب في بعض المناطق .

٢-٥- النشوء الجزيئي لمسارات PA في كاسيات البذور

جميع مركبات PAs تتشارك في هيكل الكربون في ٢- هيدروكسي ميثيل بيروليريدين في شق قاعدة الينسين (الشكل ٦-١) . لقد أجريت دراسات قليلة ودقيقة في نهاية السبعينات والثمانينات وعرفت المركب بولي أمين هوموسبيريميدين كبادئ للتخليق الحيوي لشق قاعدة الينسين (Robins, 1989, Spencer 1985) تكوين الهوموسبيريميدين يحفز بواسطة إنزيم هوموسبيريميدين سينسيز (EC 2.51. HSS) والذي تم عزله بداية وتوصيفه من مزارع جذور Senecio . لقد تم تنقية الإنزيم وكلونة والتعبير عنه في بكتريا إيشيريشيا كولاي . هذا الإنزيم يشفر بواسطة جين الذي نشأ في الأصل بواسطة التضاعف الجيني والتنوع المتتابع من جين الأسلاف لإنزيم ديوكسي هيبوسين سينسيز (DHS , EC 2.5.1.16) يحفز الخطوتان الأوليتان في النشاط ما بعد النسخ لعامل (eIF5A) 5A في حقيقية النواة . DHS عبارة عن إنزيم عالي التحفظ يوجد في جميع حقيقيات النواة و Archaea . في عملية تنشيط eIF5A فإنه يحفز نقل الشق أمينوبيوتيل للاسبيريميدين إلى بقايا الينسين للبادئ البروتيني eIFA (الشكل ٦-٨) . كتفاعل جانبي فإن DHS يكون قادراً على تحفيز تكوين هوموسبيريميدين من بوتريسين (الشكل ٦-٨) ومن ثم التفاعل الرئيسي الدقيق للإنزيم HSS . مقارنة الخصائص الإنزيمية والجزيئية للإنزيمين أظهرت أن HSS تحتفظ بجميع خصائص DHS فيما عدا القدرة على ربط البروتين البادئ eIF5A (الشكل ٦-٨ B) . نشوء HSS مثال حصري للنشوء بواسطة تغير الوظيفة : تضاعف الجين (DNS)

وظيفياً تتضمن في عملية تنشيط البروتين المنظم التي تعاد وتتكمّل على صورة HSS في البيئة الوظيفية الكاملة وظيفياً مثل التخليق الحيوي لمركبات الدفاع منخفضة الجزيئية (الشكل ١-٦ C - Ober 2005) .

السلفية المؤكدة لإنزيم HSS من DHS الذي يحدث بشكل محدود يقدم الفرصة لبروز السؤال عما إذا ما كانت مسارات PA داخل كاسيات البذور من أصول وحيدة أو متعددة الأعراف Polyphyletic . تحليل أزواج تتابعات cDNA التي تشفر DHS من مختلف أنواع كاسيات البذور أظهرت على الأقل أربعة حوادث تضاعف مستقلة للجين الذي يشفر DHS مما يؤدي في كل حالة إلى جين جديد يشفر HSS (الشكل ٦-٥). هذه التضاعفات تحدث مبكراً في نشوء وحيدة الفلقات و Boragineaceae على التوالي وحتى مرتان داخل عائلة Asteraceae (واحدة داخل Eupaturieae , Senecioneae على التوالي) . حوادث التضاعف الإضافية تماثل ما يحدث في العائلات ذات الأنواع التي تنتج PA والتي لم تراعى في هذه الدراسة . هذه البيانات توضح أن الحدوث المتفرق لمركبات PAS داخل كاسيات البذور تكون نتيجة للنشوء المتحول . هذه الملاحظة واضحة ومميزة ضد الخلفية التي تنادي بأن تراكيب PA الناتجة تكون في الغالب متطابقة . PAS من النوع ليكوبسامين كمثال يحدث داخل القبيلة (Asteraceae)



Eupatorieae وداخل العائلات Apocynaceae , Boraginaceae . بالرغم من الأصل المستقل لإنزيم HSS داخل هذه العائلات فإن PAs تشارك عدد من ملامح التراكيب المتطابقة (الشكل ٦-٥) مثل ريترونيسين . إنزيمات التخليق الحيوي الإضافية لمركبات PA سوف تحلل لمعرفة الانطباع كيف أن المسار الشامل يدور في كاسيات البذور المستقلة.

شكل (٦-٨) : أصل إنزيم هوموسبيريميدين سينسيز (HSS) بواسطة تضاعف الجين الذي يشفر أوكسي هيبوسين سينسيز (DHS) . (A) : DHS يحفز بيوتيلية الأمينو لبقايا الليسين الخاصة للبادئ eIF5A البروتيني (a) وكتفاعل جانبي تحول البيوتريسين إلى هوموسبيريميدين (b) . B : HSS هو DHS الذي فقد القدرة على ربط البروتين البادئ eIFSA . تفاعله وحركياته مع البيوتريسين يبقى بدون تغير . (C) : HSS معروف فقط من النباتات التي تحتوي PA ويعاد ويتكامل في التخليق الحيوي PA ويحفز تكوين هوموسبيريميدين وهو هيكل الكربون المتميز كقواعد النيسين .

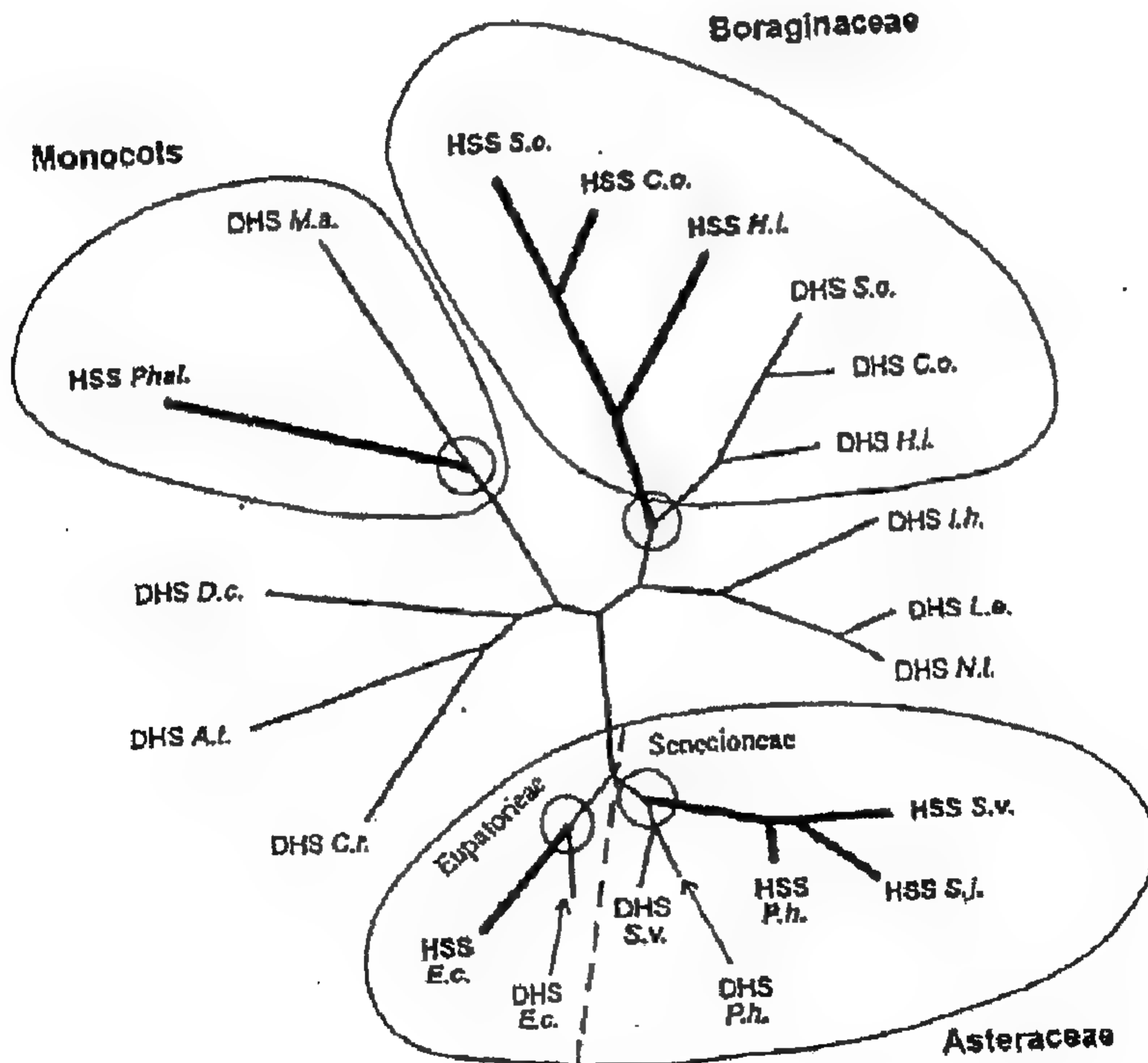
٣- استخدام الكالويدز البيروليزيدين المشتقة من النباتات بواسطة الحشرات

٣-١- حدوث وتوزيع PA المعزول بين الحشرات

منذ ما يقرب من ٤٠ عاماً مضت أوضحت الباحثة Miriam Rothsechild ومعاونيها أن يرقات فراشة النيا بار الأوربية (Arctiidae) Tyria jacobaeae تفصل PAs من عوائلها النباتية S.jacobaea وتصلح أو تصون الالكالويدز خلال جميع أطوار الحياة . في الحقب الزمنية التالية عرفت أمثلة عديدة عن قيام آكلات النباتات الحشرية بعزل PA . لقد وجد شيوع عزل PA في عائلة فراشة النمر من عائلة Arctiidae . لقد عرف حوالي ٧٠ نوع تعزل PA's مع غذاء يرقاتها مثل T.jacobarae أو الحصول على الالكالويدز في الطور البالغ من الحشرة من الأجزاء الميتة أو الذابلة من النباتات التي تحتوي على PA . في الحالة الأخيرة فإن الفراشات تتقيا على سطح النبات وعندئذ تعيد شرب السائل المحتوي على الالكالويدز الذاتية . هذا السلوك الذي يستخدم فيه النبات فقط كمصدر للدواء Drug source يطلق عليه ملتهم الصيدلانيات Pharmacophagy . هذه الظاهرة شائعة بين أبي دقيقات التي تفصل PA بما فيها إلى دقيقات التي تستخلص Ithomine nymphalid , danaine . العمل الرائد على عزل مركبات PA أجرى في استراليا والبرازيل .

من الأمثلة الأخرى عن عزل PA تلك التي وجدت في أنواع الخنافس التي تصيب الأوراق من رتبة غمدية الأجنحة والمعروف عنها تنوع كبير لكيميائيات الدفاع الداخلية . بعض الخنافس تملك العديد من الغدد خارجية الإفراز Exocrine والتي منها يتم إفراز العديد من قطرات المواد الدفاعية عندما تهاجمها الخنافس . خنافس الأوراق تقوم بوجه

عام بتخليق مركبات الدفاع الخاصة بها ولكن في بعض الحالات تستخدم وتطوع الدفاعات النباتية . أنواع الجنس Palaeartic تتغذى على النباتات التي تحتوي على مركبات PA مثل (Asteraceae) *Adenostyles alliariae* حيث تفصل وتعزل PA من عوائلها النباتية وتركزها حتى 1- 0.3moil في إفرازاتها الدفاعية . نفس التكيف حدث استقلالياً في أنواع الجنس الاستوائي *Platyphora* التي تتغذى على الأنواع التي تحتوي على PAS للنوع ليكوبسامين . هناك أمثلة إضافية من غمدية الأجنحة التي تعزل PAs النباتية مثل الخنافس البرغوثية من الجنس *Longitarsas* التي تتغذى على الأنواع المحتوية على PA من عائلات *Asteraceae* و *Boraginaceae* والخنافس البرازيلية *C. Falax* (*Cantharidae*) التي تتغذى على العناقيد الزهرية لنبات *Senecio* داخل رتبة مستقيمة الأجنحة ثم وصف نوع واحد فقط يعزل PA وهو النطاط متعدد العوائل *Z. variegates* . في رتبة نصفية الأجنحة وجدت الأنواع التي تعزل PA في ثلاثة قبائل غير مرتبطة ببعضها مثل البق *L. rufipennis* التي تمتص من سيقان نباتات *Senecio* واثنان يتغذيان على اللحاء مثل المن *A.jacobaea* والحشرة القشرية المكسيكية .



شكل (٦-٩) : شجرة الوراثة النوعية لإنزيمات HSS , DHS التي تشفر تتابعات CDNA لمختلف أنواع كاسيات البذور . تفرعات HSS التي تشفر التتابعات موضحة في حروف كبيرة حيث تنشأ في كل حالة عند حدوث التضاعف لإنزيم DHS الذي يشفر الجين (معلم بالدوائر) . الشكل محور من Reimann et al., 2004 . اختصارات الأنواع التالية :

Species abbreviations : A.t., *Arabidopsis thaliana* ; C.o., *Cynoglossum officinale* ; C.r., *Crotalaria retusa* ; D.c., *Dianthus caryophyllus* ; E.c., *Eupatorium connabinum* ; H.i., *Heliotropium indicum* ; I.h., *Ipomoea hederifolia* ; L.e., *Lycopersicon esculentum* ; M.a., *Musa acuminata* ; N.t., *Nicotiana tabacum* ; P.h., *Petasites hybridus* ; Phal , *Phalaenopsis spe* ; S.j., *Senecio jacobaea* ; S.v., *Senecio vernalis* ; *Symphytum officinale* .

جميع الأمثلة المعروفة عن عزل PA يتم تناولها بشكل مستقل موضعاً فائدة كبيرة لطلبات PA للحشرات . في معظم الحالات وجد أن عزل PA يكون مصحوباً بتكيف بيوكيميائي خاص . خنافس الورق كمثال تملك تكيفات مختلفة خاصة لمنع تراكم تركيزات ضارة من PAS كشوارد حرة ذات سمية أولية في الأنسجة النشطة تمثلياً . هذه الحشرات تملك أكثر حوامل الأغشية الأكثر نشاطاً التي تحفز انتقال PAS في الغدد الدفاعية وتركزها في افرازاتها الدفاعية .

٣-٢- عزل مركبات PA في فراشات Arctiid

٣-٢-١- النواحي السلوكية والكيميائية الإيكولوجية : قصة Utetheisa

ornatrix

دور PAS المشتقة من النباتات في أداء الحشرة تم معرفته بشكل كامل في حشرة U.ornatrix (Eisner et al., 2002) . يرقات هذه الفراشات تحصل على مركبات PAS الخاصة بها من نباتات *Crotalaria spp* وتحفظ بالالكالويدز خلال التطور . عند التزاوج فإن الذكر يعلن عن مركبات PA الخاصة به ويحملها للأنثى خلال هورمون الغزل للذكور والمحتوى على PA المسمى هيدروكسي دانيدال . ينبعث الفورمون من زوج من فرش الرائحة في الذكر (Coremata) والذي يخرج الذكر خلال التداخلات المسبقة والقريبة من تلقيح الأنثى . الإناث عندها القدرة على قياس تركيز الفورمون وتميز بين الذكور التي تحتوي على كميات غير متساوية من الفورمون وتوافق على الجماع مع الذكور التي تحتوي على مستويات عالية (Conner et al., 1995) . خلال عملية التلقيح يقوم الذكر بنقل جزء من مركبات PAS إلى الأنثى هذه الالكالويدز تنتقل جنباً إلى جنب مع حمل الأنثى من البيض خلال التبويض (Dussourd et al., 1988) .

مركبات الالكالويدز PAS تحمي الحشرات الكاملة من الافتراس بواسطة العناكب . منح مركبات PA يحمي كذلك البيض وكذلك الأطوار الأخيرة من حياة الحشرة ضد الافتراس بواسطة خنافس أبى العيد والنمل ويرقات الرعاشات وكذلك الافتراس بواسطة الدبابير أشباه الطفيليات مثل ترايكوجراما أوسترينيا .

٣-٢-٢- النواحي الفسيولوجية والبيوكيميائية

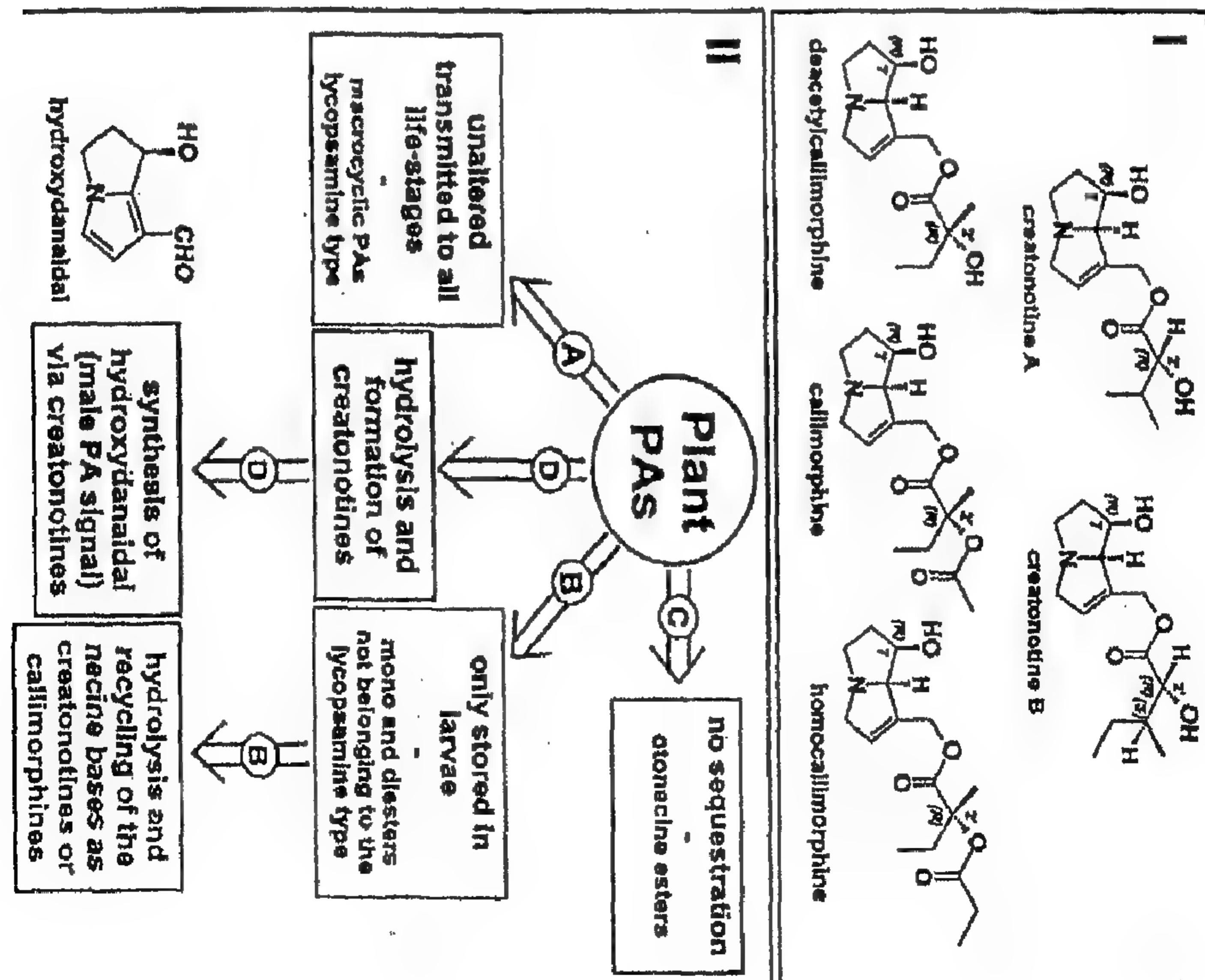
Arctiids التى تعزل PAs من عوائلها النباتية يجب أن تكتسب قدرتان جديدتان على الأقل : فهى فى حاجة لتمييز PAs كما يجب أن يكون قادرة على منع تسممها . من المعروف أن PAs عبارة عن منشطات للتغذية للحشرات أركتيد التى تكيفت على مركبات PA وحديثاً أتضح أن يرقات الأركتيد تملك خلايا عصبية حسية مفردة فى أجزاء فمها تستجيب بوجه خاص وبحساسية (الحد الحرج للاستجابة أقل من ١٠-٩ مول) لجميع الأنواع التركيبية الكبرى من PAs (الشكل ٦-١) وليس مع الالكالويدز الأخرى (Bernays et al., 2002 a,b) . الأركتيد تمتص PAs كشوارد حرة أولية السمية حيث أن إى ن - أكسيد يتم تناوله مع الطعام يختزل فى المعدة . القواعد الحرة الممتصة تتحول فى الحال إلى PA N- oxide المقابلة غير السامة . هذه الأكسدة N- تحفز بواسطة إنزيم المونواكسجينيز المعتمد على الفلافين (Senecionine N- oxygenase , EC 1.14.13.101) تستقر على صورة إنزيم ذائب فى الهيموليمف . الإنزيم يحول تخصصياً أى شارد حر سام أولى إلى ن - أكاسيد غير سامة . متطلبات هذا العمل فى أركتيد السلف يبدو أنه مطلب مسبق لفصل أو عزل PA . التمييز الحسى وفقد السمية المتخصص يسمح للأركتيد وحيد العائل المتكيف مثل U.ornatrix و T.jacobaeae لإدراك وصيانة PAs من عوائلها النباتية . هذا ولو أن الأنواع متعددة العوائل مثل E.ocrea أو G.geneura والتى تم تسجيل ما يزيد عن ٦٥ نوع نباتى عائل فى حاجة إلى تكيفات إضافية . كلا النوعين يستغل من النباتات المحتوية على PA مثل Senecio أو Crotalaria فى البيئة الطبيعية مثل أراضى الرعى فى أريزونا كما هو الحال " مصدر الأدوية " . حيث أنها لا تستطيع العيش والبقاء على النباتات التى تحتوى على مركبات PA كمصدر غذاء وحيد فإن التغذية على نباتات بها PA تسبب فقد مرحلى فى استجابة الأجسام العصبية الحساسة لمركبات PA مما يسمح للديدان بترك مصدر الالكالويد الخاص بها وتبحث عن غذاء أفضل جودة . هذا الميكانيكية تسمح للديدان بإيجاد اتزان بين تناول المغذيات وأدوية الدفاع . بالإضافة إلى ذلك فإن الاستجابة لتنشيط الالتهام لجميع أنواع PA تتطلب مقدرة الديدان الأكلة على التوافق مع أى مصدر PA نباتى يحدث طبيعياً . يوجد على الأقل ثلاثة طرق عن كيفية تداول مركبات PA (الشكل ٦-٦):

١- مركبات PA's كبيرة الحلقية و PA من النوع ليكوبسامين (الشكل ٦-١) تعزل وتصان دون تغير خلال جميع أطوار الحياة (الشكل ٦-٦ IIA) .

٢- PA's التي لا يمكن فقد سميتها بواسطة الأكسدة N- مثل مشتقات الأوتونيسين (مثل سينكيركين - الشكل ٦-١٠) تستبعد من الفصل (الشكل ٦-٦ IIC) .

٣- PA's التي تفصل بواسطة اليرقات ولكنها تحتاج لأسترة انتقالية قبل الانتقال لأطوار حياة متتابعة (الشكل ٦-٦ IIB) . الحالة الأخيرة تتضمن في الأساس الاسترات الأحادية لمركبات PA والمركبات ثنائية الاسترات ذات السلسلة المفتوحة التي لا تنتمي للنوع ليكوبسامين .

هذه الأنواع من PA تتحلل مائياً في اليرقات وقواعد الينسين الناتجة يعاد أسترتها مع أحماض الينسين ذات الأصل الحشري . لقد لوحظت بشكل متكرر استرات ريترونيسين الخاصة بالأركتيد مثل كاليمورفين والكرياتونوتين . هذه المركبات تمثل قسماً من PA's المتخصصة للأركتيد هما الكاليمورفينات والكرياتونوتينات (الشكل ٦-٦) . الأركتيدات ذات مقدرة لإعادة أسترة جميع أنواع قواعد الينسين المشتقة من PA's النباتية ومن ثم تكون قادرة على تعويض قواعد الينسين وصيانتها كاسترات من صنع الحشرات خلال جميع أطوار الحياة . هذه الصورة من التمثيل المدهشة تسمح للأركتيدات عديدة العوائل باستغلال معظم أنواع PA's التي تحدث طبيعياً في النباتات بشكل فعال .



شكل (٦-١٠) : مركبات Callimorphines , Creatonotines قسمان من البيروليزيدين الكالويدز الخاصة للاركتيد مصنوعة من قاعدة نيسين من الأصل النباتي وأحماض نيسيك التي تزود بواسطة الحشرات . (II) يرقات أركتيد عديدة العوائل قادرة على التواكب مع جميع التراكيب لمركبات PAs النباتية . اعتماداً على التركيب فإن PAs قد تستخدم أى من ٢٩٤٠ - المركبات غير المتغيرة (المسار A) أو تتحلل مائياً وقواعد النيسين تعوض على صورة كرياتونوتينات أو كالومورفينات (المسار B) أو تستبعد من العزل مثل استر الأولونيسين (المسار C) . الأنواع التي تنتج فورمون الغزل فى الذكور خاصة هيدروكسى داناداي وتخلق إشارة PA هذه خلال كرياتونوتينات كوسيط شائع (المسار D)

Reference

- Aplin RT, Benn MH, Rothschild M (1968) Poisonous alkaloids in the body tissues of the cinnabar moth (*Callimorpha jacobaeae* L.). *Nature* 219:747-748
- Bernays EA, Edgar JA, Rothschild M (1977) Pyrrolizidine alkaloids sequestered and stored by the aposematic grasshopper, *Zonocerus variegatus*. *J Zool* 182:85-87
- Boppre M (1984) Redefining pharamcophagy. *J Chem Ecol* 10:1151-1154
- Bottcher F, Ober D, Hartmann T (1994) Biosynthesis of pyrrolizidine alkaloids: putrescine and spermidine are essential substrates of enzymatic homospermidine formation. *Can J Chem* 72:80-85
- Cheeke PR (ed) (1998) Natural toxicants in feeds, forages, and poisonous plants. Interstate, Danville
- Dobler S, Happer W, Witte L, Hartmann T (2000) Selective sequestration of pyrrolizidine alkaloids from diverse host plants by *Longitarsus* flea beetles. *J Chem Ecol* 26:1281-1298
- Edgar JA (1982) Pyrrolizidine alkaloids sequestered by Salomon Island Danainae butterflies. The feeding preferences of the Danainae and Ithomiinae. *J Zool* 196:385-399
- Eisner T, Eisner M, Rossini C, Iyengar VK, Roach BL, Benedikt E, Meinwald J (2000) Chemical defense against predation in an insect egg. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:1634-1639
- Fu PP, Xia Q, Lin G, Chou MW (2004) Pyrrolizidine alkaloids – genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms. *Drug Metab Rev* 36:1-55
- Gonzalez A, Rossini C, Eisner M, Eisner T (1999) Sexually transmitted chemical defense in a moth (*Utetheisa ornatrix*). *Proc Natl Acad Sci USA* 96:5570-5574
- Haberer W, Dobler S (1999) Quantitative analysis of pyrrolizidine alkaloids sequestered from diverse host plants in *Longitarsus* flea beetles (Coleoptera, Chrysomelidae). *Chemmecology* 9:169-179
- Hartmann T (1999) Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. *Planta* 207:483-495
- Huan JY, Miranda CL, Buhler DR, Cheeke PR (1998a) The roles of CYP3A and CYP2B isoforms in hepatic bioactivation and detoxification of the

- pyrrolizidine alkaloid senecionine in sheep and hamsters. *Toxicol Appl Pharmacol* 151:229-235
- Jenett-Siems K, Schimming T, Kaloga M, Eich E, Siems K, Gupta MP, Witte L, Hartmann T (1998) Pyrrolizidine alkaloids of *Ipomoea hederifolia* and related species. *Phytochemistry* 47:1551-1560
- Klitzke CF, Trigo JR (2000) New records of pyrrolizidine alkaloid-feeding insects. Hemiptera and Coleoptera on *Senecio brasiliensis*. *Biochem Syst Ecol* 28:313-318
- Lindigkeit R, Biller A, Buch M, Schiebel HM, Boppre M, Hartmann T (1997) The two faces of pyrrolizidine alkaloids: the role of the tertiary amine and its N-oxide in chemical defense of insects with acquired plant alkaloid. *Eur J Biochem* 245:626-636
- Mattocks AR (ed) (1986) Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids. Academic Press, London.
- Moll S, Anke S, Kahmann U, Hansch R, Hartmann T, Ober D (2002) Cell specific expression of homospermidine synthase, the entry enzyme of the pyrrolizidine alkaloids in *Senecio vernalis* in comparison to its ancestor deoxyhypusine synthase. *Plant Physiol* 130:47-57
- Narberhaus I, Zintgraf V, Dobler S (2005) Pyrrolizidine alkaloids on three trophic levels – evidence for toxic and deterrent effects on phytophages and predators. *Chemoecology* 15:121-125
- Ober D, Hartmann T (2000) Phylogenetic origin of a secondary pathway: the case of pyrrolizidine alkaloids. *Plant Mol Biol* 44:445-450
- Prakash AS, Pereira TN, Reilly PEB, Seawright AA (1999) Pyrrolizidine alkaloids in human diet. *Mutat Res* 443:53-67
- Reimann A, Nurhayati N, Backenkohler A, Ober D (2004) Repeated evolution of the pyrrolizidine alkaloid-mediated defense system in separate angiosperm lineages. *Plant Cell* 16:2772-2784
- Singer MS, Carriere Y, Theuring C, Hartmann T (2004a) Disentangling food quality from resistance against parasitoids: diet choice by a generalist caterpillar. *Am Nat* 164:424-429
- Stegelmeier BL, Edgar JA, Colegate SM, Gardner DR, Schoch TK, Coulombe RA, Molyneux RJ (1999) Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity. *J Nat Tox* 8:95-116

- Trigo JR, Brown KS, Henriques SA, Barata LES (1996) Qualitative patterns of pyrrolizidine alkaloids in ithomiinae butterflies. *Biochem Syst Ecol* 24:181-188
- Van Dam NM, Witte L, Theuring C, Hartmann T (1995b) Distribution, biosynthesis and turnover of pyrrolizidine alkaloids in *Cynoglossum officinale*. *Phytochemistry* 39:287-299
- Von Brostel K, Witte L, Hartmann T (1989) Pyrrolizidine alkaloid patterns in populations of *Senecio vulgaris*, *Senecio vernalis* and their hybrids. *Phytochemistry* 28:1635-1638
- Vrieling K, Derridji S (2003) Pyrrolizidine alkaloids in and on the leaf surface of *Senecio jacobaea* L. *phytochemistry* 64:1223-1228
- Williams DE, Reed RL, Kedzierski B, Dannan GA, Guengerich FP, Buhler DR (1989a) Bioactivation and detoxication of the pyrrolizidine alkaloid senecionine by cytochrome P-450 enzymes in rat liver. *Drug Metab Dispos* 17:387-392
- Witte L, Ernst L, Adam H, Hartmann T (1992) Chemotypes of two pyrrolizidine alkaloid containing *Senecio* spp. *Phytochemistry* 31:559-566

الباب السابع

دور الإنزيمات مضادات التغذية والبروتينات وإنزيمات المعدة في تحقيق الدفاع ضد الآفات التي تهاجم النباتات

أولاً : مثبطات إنزيم البروتينيز النباتي : النشوء الوظيفي للدفاع

Plant Protease Inhibitors : Functional Evolution for Defense

Maarten A. Jongsma and Jules Beekwilder

في هذا المقام سوف نستعرض الطرق التي تلجأ إليها النباتات والمفترسات النباتية لخلق الحلول في معركة الحصول على الأحماض الأمينية الضرورية النادرة . سوف نوضح أنه في كلا الجانبين النبات والحشرة تشترك العديد من عائلات الجينات المختلفة للمثبطات والبروتينيزيس مع نظم تعبير خاصة ومحددة بين الأفراد المختلفة . هذا الوسائل تقدم بصمة وراثية للنشوء والايكولوجي لدورها الوظيفي . سوف نشير إلى بعض الفرضيات والتي تعضد بعض الأدلة تحت ظروف خاصة فيما يتعلق بالنشوء الوظيفي . النظرة الأولى تشير إلى أن التداخلات بين النبات - الحشرة / الممرض ما هي إلا صدام بين اثنين من الجزيئات البروتينية . هذا ولو أنه بسبب الطبيعة العرضية للنشوء فإن هذه المعركة قد تأخذ العديد من المظاهر الجديدة . تيسر جينومات الفصل الكاملة على مستوى كلا النبات والحشرة والوسائل الممتازة للجينات الخاصة المسؤولة عن فرط التعبير تقدم ما هو مطلوب بالضبط للسماح باكتشافات جديدة في هذا المجال .

١ - مقدمة

البحوث في مجال مثبطات البروتينيز النباتي (PIs) ترجع لأكثر من ٦٠ عاماً بداية من انتهاء الحرب العالمية الثانية عندما قام الباحث Bowman (1946) , Kunitz (1946) وكذلك Birk et al., 1963 لأول مرة بتتقية وتوصيف مثبطات البروتينيز في نباتات فول الصويا . بعدئذ وفي الحقب الزمنية التالية تم إضافية عائلات جديدة من الجينات للعدد الابتدائي لدرجة أننا على معرفة في الوقت الحالي بثلاثة عشر من العائلات الجينية المختلفة لمثبطات البروتينيز وهي التي تتضمن وتحكم عمل جميع العائلات الرئيسية للبروتينيزيس . والتي تستهدف في الغالب تثبيط بروتينيز آكلات النباتات أو مسببات الأمراض النباتية .

M.A. Jongsma

Plant Research International B.V., Wageningen University and Research Center , 6700 AA Wageningen , The Netherlands .

e-mail : marten.jongsma@wur.nl

A. Schaller (ed.) , Induced Plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008 .

التأثيرات المضادة للتغذية لمثبطات البروتينيز في تغذية الحيوان والإنسان عرفت منذ زمن بعيد ولكن دورها في الدفاع النباتي أصبح مؤكداً عندما اكتشف الباحثان Green and Ryan (1972) أن أوراق النبات كذلك تحفز مستويات عالية من مثبطات البروتينيز في استجابة خاصة للتلف الميكانيكي والذي يحدث بواسطة الحشرات . اكتشاف التحورات الوراثية سمح بالتعبير الفائق لمثبطات البروتينيز والتي قدمت بعد ذلك وتباعاً الدليل الأول في المملكة النباتية عن دور مثبطات البروتينيز في حماية النباتات ضد الحشرات (Abdeen et al ., 2005) . الطفرات الطبيعية لمثبطات التربسين في نباتات الدخان البرية قدمت الدليل الحقيقي الأول بأن المثبطات تحدث مستوى معين من السيطرة أو المكافحة حتى ضد آفاتنا الطبيعية (Zavala et al., 2004) .

بالرغم من الارتفاع الرهيب في مستويات مثبطات البروتينيز في الدفاع النباتي ضد الحشرات آكلات النباتات فإن التأثير على موت أو تطور آكلي النباتات يكون في الغالب ضئيل أو يكون غائباً . هذا ولو أن التأثيرات الصغيرة على التطور قد تكون وثيقة الصلة بالنواحي الأيكولوجية وتؤثر على الجيل الثاني مع خفض شديد في التكاثر . هذا ولو أن الملاحظة بأن بعض الحشرات تراوغ تأثيرات المثبطات بواسطة الاستجابة مع تحفز البروتينيز غير الحساسة لمركبات PI مما يخلق الحذر بأنه توجد معركة بين المثبط وجزيئات البروتينيز وفي نظام مرحلي (Jongsma et al., 1995) . لقد أتضح بعد ذلك أن البروتينيز فيها طفرات مكتسبة تجعلها فراغياً غير حساسة للمثبطات (Bown et al., 1997) . الحشرات الأخرى كانت شديدة الفاعلية في هدم المثبطات مع بروتينيز خاصة. لكن وبالرغم من هذه الرؤية فإننا نعتقد بأننا أحرزنا بعض التقدم ولو قليل في اقتفاء أثر الألغاز التي تلعبها اقتراب الحيلة والخداع Trick and Deceit والتي تدور حول هذا النوع من صور الدفاعات النباتية .

في هذا المقام سوف نتناول وصف كيف يمكن فهم هذه التداخلات الآن وفي المستقبل. بالرغم أن هذا كان من ضمن الأبحاث القديمة ولكن النتائج المتدنية يمكن أن تفعل وتعظم في الأهمية إذا تم بحث الموضوع في النطاق الأيكولوجي والفسولوجي

والسيتولوجى وفى النهاية من النواحي الجزيئية فيما يتعلق ما يحدث مع المفترسات ومسببات الأمراض النباتية.

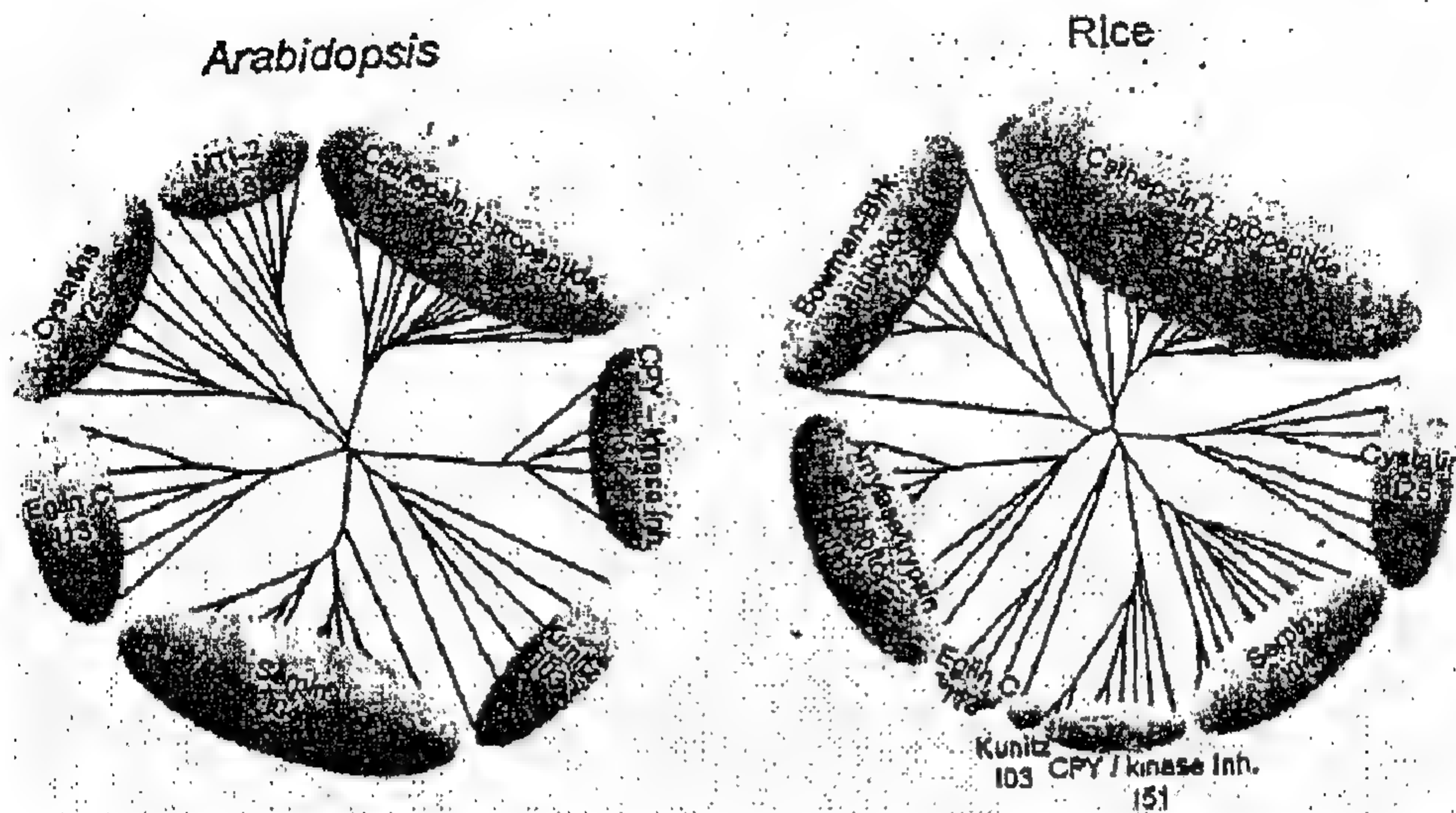
٢- ترتيب عائلات الجينات مع تنوع الأدوار

٢-١- جينومات نباتات الأرابيدوبسيس والأرز

لحد بعيد فإن المصدر الغنى بالجينومات النباتية كاملة الفصل أو العزل لم يستغل بشكل كامل بالنظر للمجالات الخاصة بـمثبطات البروتين. لغرض هذا الاستعراض تم حصر أو جرد المجموعة الوراثية الكاملة لمثبطات البروتين لنوعين من النباتات: الجينومات التى تم التعليق عليها بشكل كامل لنباتات *Arabidopsis thaliana* والأرز *Oryza sativa*. الأرابيدوبسيس نبات ثنائى الفلقات بينما الأرز وحيد الفلقة وهذين النباتين بعيدى الارتباط مع بعضهما فى المملكة النباتية. من الأمور المناسبة أن قاعدة المعلومات MEROPS تستتطق هذه الجينومات لوجود سلاسل متجانسة متتابعة لمثبطات البروتين المعروفة.

عبر جميع الكائنات الحية فإن المثبطات فى قاعدة المعلومات MEROPS تم تقسيمها فى ٦٨ عائلة يشار إليها 102 , 101 وهكذا. ثلاثة عشر من هذه العائلات توجد فى النباتات. فى أنواع نباتية خاصة مثل الأرابيدوبسيس فإن الجينوم يحتوى على ٨١ جينات مثبطة مزعومة تمثل سبعة من هذه العائلات (الشكل ٧ - ١ - 1A) بينما جينوم الأرز يحتوى ١٢١ من جينات مثبطة مزعومة تمثل ثمانية عائلات مثبطة (الشكل ٧ - 1B). يوجد تداخل محسوس بين عائلات المثبط التى توجد فى كل النباتين. ستة عائلات 103 (مثبطات من النوع Kunitz) ، 104 (sprpins) و Eglin C- (113 homologues) و 125 (Cystatins) و 129 (Cathepsin prodornins) و 151 (Cpy-inhibitor homologues) تحدث فى كل النباتين. قد يعتبر البعض أن هذه العائلات مثبطات عامة نباتية كذلك التى تحدث فى معظم الأنواع النباتية.

بالإضافة إلى عائلات مثبط البروتين العامة فإن العديد من العائلات النباتية تملك مثبطات توجد بتميز فقط فى بعض مجاميع النباتات. فى الأرز توجد فى أفراد من ١٠٦ عائلة (مثبطات تربسين / ألفا - أميليز) ، وهى تقليدية فى وحيدة الفلقة ، ١١٣ عائلة (مثبطات Bowman - Birk inhibitors) وهى تحدث كذلك فى البقوليات والبطاطس وعباد الشمس ولا تحدث فى نباتات أرابيدوبسيس. من جهة أخرى فإن الأرابيدوبسيس تعبر عن أفراد من ١١٨ عائلة (سلسلة مثبط تربسين الخردل) وهو حصرى متميز فى عائلة الصليبيات Cruciferae. يوجد كثير من مثبطات البروتين متخصصة للنوع.



شكل (٧-١) : شجرة الوراثة النباتية بناء على تتابعات البروتين الناضج لجميع مثبطات البروتينيز لنباتى أرابيدوبسيس والأرز فى قاعدة المعلومات MEROPS (Rawlings et al. 2006).

منظور الشكل (٧-١) يبني على بيانات تتابع فقط ويميل إلى تضخيم العدد الفعلي للمثبطات المشفرة . ليس كل تتابع لوحظ وسجل يعتبر حقيقى لتشفير مثبط بروتينيز فعال . كمثال فإن سلسلة مثبط 151 Cyp ترتبط بمثبط كربوكسى ببتيديز ٢ فى الخميرة وكذلك مع تجمع مثبطات الكينيز المعروفة . لحد بعيد فإن نشاط مثبط البروتينيز لم يظهر فى أى من البروتينات النباتية هذه . فى هذا المقام نشير إلى العائلة الأكبر من المثبطات فى كلا النباتين وهو 129 Cathepsin - proddomains . 129s يمكن أن يحدث إما على صورة مثبطات حرة أو على صورة Prodomain للكاثيسين . فى جميع أنواع الأرابيدوبسيس ومعظم أنواع الأرز الأعضاء 129 فإن نموذج المثبط فى البروتين يتبع بواسطة كاثيسين السائد . مما يوضح أن هذه البروتينات تعمل كميدان اولى لمنع التنشيط غير الناضج للكاثيسين . فى الأرز تتكون مجموعة صغيرة من أربعة تتابعات (موضحة فى الشكل ٧ - 1B) بواسطة أفراد 129 والتي لا تكون جزء من تتابع الكاثيسين ومن ثم تعمل كمثبطات للبروتينيز الأخرى بالرغم من هذه الوظيفة لم تقيم بعد .

معظم المثبطات فى الأرز والأرابيدوبسيس تستهدف سيرين بروتيزيس مثل التربسينات والكيموتربسينات والتي بحقيقة أن العديد من أكالات النباتات مثل حشرات حرشفية الأجنحة وكذلك الثدييات تستخدم هذه البروتيزيس لهضم البروتين . العائلة 125 فقط (Cystatins) تستهدف سيستين بروتيزيس بينما العائلة 103 ، مثبطات Kunitz تتضمن أفراد متخصصة لبروتيزيس السيستين والأسبارتيك .

٢-٢- الأدوار فى الدفاع وكذلك فى المجالات الأخرى .

لقد تأكدت العلاقة المباشرة للدفاع ضد مفصليات الأرجل والنيماتودا و / أو البكتريا مع معظم عائلات المثبط مثل 112 (Bowman – Birk) و 103 (Kunitz) و 106 (تربسين / الف – أميليز) و 125 (سيستاتينات) و 113 (Eglin) و 118 (مثبط تربسين الخردل) . لقد وجد استثناء فى عائلة سيرين (104) . لقد أتضح أنها تملك نشاط مثبط فى النباتات ولكن دورها الوظيفى مازال غير واضح . السربينات ترافق البروتينات المخزنة فى بذور وحيدة الفلقات حيث تحميها من التحلل البروتينى Proteolysis أو تظل تعمل فى الدفاع . فى نباتات الأرابيدوبسيس فإنه لا يوجد أى من أفرادها يحفز بواسطة الجسمونات أو المعاملة بالساليسيلات ومستوى التعبير تكون شديدة الانخفاض بوجه عام . لقد لوحظ أنه عندما يحدث تعبير فائق لسيكينات نبات البطاطس والتي لها دور دفاعى معروف فى الطماطم فإن ذلك يؤدى إلى تقزم وفقد اليخضور Chlorosis فى نباتات الطماطم بينما لم تلاحظ هذه التأثيرات عندما استهدفت المثبطات مسار الإفراز . هذا يوضح أن هذه البروتينات ليست خاملة بالنسبة لفسولوجية النبات العائل وقد تلعب أدواراً هامة ثانوية فى سلاسل من العمليات غير مرتبطة بالدفاع وتعتمد على الوضع تحت الخولى للمثبط .

لقد أصبح التركيب الدقيق لجينوم DNA الكافل لنبات أرابيدوبسيس ولسنوات عديدة مما أدى إلى توفر مصدر غنى لبيانات التعبير لكل جين فى الأنسجة المختلفة تحت الظروف الفسيولوجية والإجهادات المختلفة . بدون أى تجارب معملية رطبة فإن هذه البيانات يمكن أن تظل فى الذاكرة وتستخدم لوضع فرضيات عن وظائف الأفراد فى عائلات الجين . كمثال تم عمل هذا التدريب على عائلة جين 2 – MII فى القرعيات مع ستة من الجينات والتي سبق دراستها كذلك بواسطة Clauss and Mitchell – olds (2004) . الجدول (٧-١) يلخص البيانات المتاحة فى الوقت الراهن عن التعبير الجينى للجين المتخصص فى نسيج نبات الأرابيدوبسيس . من الأمور المميزة رؤية أن الوظيفة الواضحة والوفيرة لهذه الجينات (وهى تشفر مثبطات التربسين) على الأقل جزئياً وهذا يفسر من خلال حقيقة أن أنسجتها تختلف بشكل خاص وعريض فيما بين الجذور كمثال (أساساً At 2943535) والأوراق (أساساً At 2943550 و At 2943530) أو البذور (أساساً At 2943520 , At 1947540) بالإضافة إلى ذلك فإنها تنظم بشكل

مختلف كثيراً تحت الإجهادات المختلفة والظروف الفسيولوجية . من الواضح أن At 2943530 و At 2943550 و At 2943550 فقط هي التي تستجيب للجسمونات بينما At 2943510 يستجيب بشكل خاص للعدوى الميكروبية بواسطة بسيدوموناس سيرنجيا .

جدول (٧-١) : التعبير التكويني المتخصص في الأنسجة بدون محفز الأعضاء الستة جميعاً لعائلة جين 2 - MTI في الأرابيدوبسيس . متوسط إشارات التزهير لهذه الأنسجة موضحة في الجدول

Anatomy	Acc. nr.	At2g43510	At2g43520	At2g43530	At2g43535	At1g47540	At2g43550
	Potential inducer	<i>P.syringae</i> senescence		jasmonate wounding	darkness		Jasmonate
		ATTI1	ATTI2	ATTI3	ATTI4	ATTI7	ATTI6
	#of Chips	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean
0 callus	6	5604	190	440	2030	133	39
1 cell suspension	87	5766	255	307	5771	70	298
2 seeding	493	1832	697	2123	5944	91	1879
21 cotyledons	9	763	618	3879	1127	42	4049
22 hypocotyl	6	453	413	6104	3540	82	3552

تابع جدول (٧-١) : التعبير التكويني المتخصص في الأنسجة بدون محفز الأعضاء الستة جميعاً لعائلة جين 2 - MTI في الأرابيدوبسيس . متوسط إشارات التزهير لهذه الأنسجة موضحة في الجدول .

Anatomy	Acc. nr.	At2g43510	At2g43520	At2g43530	At2g43535	At1g47540	At2g43550
	Potential inducer	<i>P.syringae</i> senescence		jasmonate wounding	darkness		Jasmonate
		ATTI1	ATTI2	ATTI3	ATTI4	ATTI7	ATTI6
	#of Chips	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean
23 radicle	9	121	173	357	7690	84	672
3 inflorescence	232	1939	3428	4203	827	6685	210
31 flower	85	2058	925	5116	513	62	3842
311 carpel	15	1314	563	7154	827	47	3844
311 1 ovary	4	1613	376	5021	479	49	3334
311 2 stigma	3	2363	148	2340	170	69	1868
312	6	991	75	1566	156	50	4727

petal							
313 sepal	6	13766	337	2229	236	47	2098
314 stamen	15	575	154	1056	191	101	1253
314 1 pollen	2	452	86	59	396	157	12
315 pedicel	3	489	652	2716	752	69	3546
32 silique	19	1542	2004	4746	738	9370	1089
33 seed	53	2661	9864	801	1624	25735	176
34 stem	28	1212	533	3827	489	56	1961
تابع جدول (٧-١) : التعبير التكويني المتخصص في الأنسجة بدون محفز الأعضاء الستة جميعا لعائلة جين 2 - MTI في الأرابيدوبسيس . متوسط إشارات التزهير لهذه الأنسجة موضحة في الجدول .							
Anatomy	Acc. nr.	At2g43510	At2g43520	At2g43530	At2g43535	At1g47540	At2g43550
	Potential inducer	<i>P.syringae</i> senescence		jasmonate wounding	darkness		Jasmonate
		ATTI1.	ATTI2	ATTI3	ATTI4	ATTI7	ATTI6
	#of Chips	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean
35 node	3	260	536	4362	454	39	4957
36 shoot apex	25	1858	2680	7164	807	41	3873
37 cauline leaf	3	1636	178	2129	193	38	392
4 rosette	710	3473	1499	6035	925	55	4228
41 juvenile leaf	87	2036	782	3846	722	69	2377
42 adult leaf	243	6346	2449	8560	1007	69	5533
43 petiole	12	559	467	4303	548	27	3986
44 senescent leaf	3	3454	102	995	79	49	131
45 hypocotyl	12	2703	3858	3470	2097	83	415
451 xylem	3	3441	4618	1676	587	71	116
452 cork	3	812	225	1249	383	90	571

5 roots	236	1967	109	229	4793	72	408
52 lateral root	4	611	303	1300	7892	101	548
تابع جدول (٧-١) : التعبير النكريبي المتخصص في الأنسجة بدون محفز الأعضاء الستة جميعا لعائلة جين 2 - MTI في الأرابيدوبسيس . متوسط إشارات التزهير لهذه الأنسجة موضحة في الجدول .							
Anatomy	Acc. nr.	At2g43510	At2g43520	At2g43530	At2g43535	At1g47540	At2g43550
	Potential inducer	<i>P.syringae</i> senescence		jasmonate wounding	darkness		Jasmonate
		ATTI1	ATTI2	ATTI3	ATTI4	ATTI7	ATTI6
	#of Chips	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean
53 root tip	4	148	162	281	2351	147	89
54 elongation zone	7	190	116	131	4685	129	157
55 root hair zone	4	296	114	126	1008	92	112
56 endodermis	3	483	127	187	1037	170	49
57 endodermis + cortex	3	155	108	300	974	104	306
58 epid atrichoblasts	3	498	156	326	9012	136	88
59 lateral root cap	3	838	162	594	1579	131	174
60 stele	3	244	173	163	1576	190	94
Inducer refers to circumstances which activate the gene on top of the developmentally regulated expression in different tissues provided in the table. Results were obtained from the Gene Atlas of Genevestigator (Zimmermann et al. 2004) at http://www.genevestigator.ethz.ch/ . Most data possessed standard errors of 5%-20% of the mean. ATTI numbers refer to Clauss and Mitchell-Olds (2004).							

٣- العلاقة بين التركيب والفاعلية

٣-١- التخصصية للبروتينيز : النماذج المختلفة

كما ذكر قبلاً فإن النباتات تشترك أقسام مختلفة من الجزيئات لتنشيط أنواع مختلفة من البروتينيز وفي الغالب تحدث خارج نظامها الخاص كجزء من معدة آكل النبات أو السائل الميكروبي خارج الخلايا . الأقسام المختلفة للمثبطات تحفز بواسطة تركيب هيكلها من البولي ببتيدات . ميكانيكية التنشيط ولو أنها تكون هي نفسها مع جميع الأقسام وتتضمن تداخل بقايا المثبط مع الموقع الفعال للبروتينيز المستهدف في نظام قويم (مثل الوسيط) خلال دائرة الموقع النشط المعرض (Bode and Huber 2000) . بالنسبة لمثبطات

سيرين بروتينيز فإن معظم المخلفات التي تتداخل مع البروتينيز تقع على دائرة فردية والتي تكون فيها بقايا P1 مركزية . بقايا P1 لوسائط البروتينيز هي واحدة على جانب الأمين للرابطة المتحللة مائياً وفي الغالب تكون محدودة لتمييز الوسيط . المتبقيات المحيطة (P2 , P3 ... الخ) ونهايات النتروجينية و P1 , P2 ... الخ عند نهايات الكربون) تلعب أدواراً ثانوية في تداخل البروتينيز ووسائطها . في كلا المثبطات والوسائط فإن بقايا P1 ثبت في توافق وإحكام في ارتباط الوسيط S للبروتينيز . على عكس وسائط الببتيد العادية فإن بقايا المثبط حول P1 تتداخل مع الإنزيم خلال التداخلات القطبية المكملّة والكارهة للماء وتمسك في موضع بواسطة روابط قوية مع مسرح المثبط. هذا يمنع التفريق الفوري للمعقد والذي يحافظ على الإنزيم غير نشط .

بقايا P1 في العادة تمثل المحدد الأولى لتخصصية المثبط . في حالة مثبطات التربسين فإن بقايا P1 في العادة تكون مشحونة موجبة (Arg or Lys) ولكن في حالة مثبطات الكيموتربسين فإن P1 تكون كارهة للماء (Phe أو Trp - Ile - Leu) . الأهمية النسبية لبقايا P1 تختلف بين المثبطات . كمثال فإن مثبط تربسين الخردل - MTI مع Arg عند موقع P1 يكون مثبط قوى للتربسين ولكنه غير قادر على تثبيط الكيموتربسين . عندما يتغير P1 - MTI-2 في الليوسين Leu فإن المثبط يصبح فعال ونشط ضد الكيموتربسين ويفقد معظم نشاطه وفاعليته ضد التربسين . لذلك فإن تخصص MTI-2 يسيطر عليه بوضوح بواسطة بقايا P1 . مع PI-2 من جهة أخرى فإن المثبط مع Arg عند الموضع P1 تثبط كلا التربسين والكيموتربسين . هذا يوضح أنه في حالة PI-2 فإن التلامس بين الإنزيم والمثبط خارج الموقع P1 يلعب دوراً ضرورياً في التمييز . بوجه عام فإن طبيعة بقايا P1 يمكن أن تمكن من التنبؤ بقسم الإنزيم الذي يحدث له تثبيط .

البقايا الملامسة خارج PI تلعب دوراً في التمييز بين الإنزيم والوسيط . خاص يمثل بروتينيز تنظيمية والتي تنشط بشكل متخصص البروتينات الأولية . الثرومبين كمثال يملك أخدود موقع نشط للسائون يبنى أساساً من اثنان من الدوائر الكبيرة نسبياً حول البقايا 50 , 150 . نتيجة لذلك فإن الوسائط ذات الشكل المناسب فقط (مثل الفيرونوجين) والمثبطات تكون لها توافق مع موقعها النشط . معظم البروتينيز تحتوى على أخدود للوسيط ولكن يكون عادة أكثر في العرض ومن ثم يكون أقل اختيارية عما هو الحال مع الثرومبين . هذا يمثل الحقيقة بوجه خاص للبروتينيز على غرار التربسين مع مدى عريض من الوسائط كتلك التي تشترك في هضم بروتينات الطعام .

ما زالت بقايا المثبط حول PI داخل عائلة الجين مفرطة التباين بالنسبة لبقايا البروتين . باستخدام سلاسل من الوسائط الفلوروجينية وأتضح إمكانية التحقق من أهمية

البقايا المجاورة لبقايا PI لغرض كفاءة الانقسام (Gosalia et al., 2005). هذه الممارسات توضح أن البروتينيز المرتبطة تستطيع تكوين أو إحداث قابليات مختلفة للوسائط (والمثبطات) بواسطة التداخل مع الأحماض الأمينية حول موقع الانقسام الأولى. لقد قام الباحث Loskowski ومعاونوه بتحليل دائرة ارتباط الإنزيم للمثبطات من عائلة مثبط التربسين أفوميوكويد فيما يزيد عن 100 نوع من الطيور ووجدوا أن البقايا المعروفة تلامسها الإنزيمات المستهدفة مختلفة على وجه الخصوص بين هذه الأنواع. هذه الاختلافات توضح تكيفات في عائلة المثبط تجاه البروتينيز المختلفة المستهدفة والتي بدورها تحدث تغيرات في الحمض الأميني عند منطقة الارتباط فيما بين السطوح.

لقد وجدت اختلافات مؤكدة أكثر بين العائلات المختلفة من مثبطات البروتينيز. هذه الاختلافات تتضمن عدد من التلامسات التي تحدثها مع الدوائر المختلفة للبروتينيز. الجدول (٧-٢) يلخص التلامسات التي وجدت في التراكيب البلورية لثلاثة أقسام من المثبطات النباتية مع البروتينيز مثل التربسين. بينما جميع المثبطات تعمل ملامسات خلال بقايا PI والبقايا الأخرى تحدث الاختلاف. كمثال فإن PI-2 له تداخلات مع الدائرة حول بقايا التربسين 170 (تشارك في مواقع S2, S3, S4 للبروتينيز) بينما BBI, SKTI تعاني من نقص هذه التداخلات. على العكس فإن SKTI تعمل عدداً من التلامسات للدائرة حول بقايا التربسين 150 بينما هذه التلامسات تغيب في BBI, PI-2. لقد وجد أن BBI له محدودية كبيرة جداً في التلامس مع الدوائر التي تكون جيوب S1, S2 ... الخ حيث يلامس بقايا التربسين 1 فقط بينما SKTI وخاصة PI-2 لها بقايا عديدة تلامس جيوب S1, S2 ... الخ. في الشكل (٧-٢) يتضح تلامسات متناهية لمثبط البروتينيز للأنواع المختلفة من المثبطات. هذا يوضح أن العائلات المختلفة لمثبط البروتينيز تتكامل تبعاً لمواقع تماسها مع البروتينيز. هذا التكامل الملاحظ قد يكون محدداً لتحقيق الدفاع الفعال ضد آكلات الأوراق مع برتينيز الهضم المختلفة وقد تفسر وجود عائلات متنوعة من المثبط.

جدول (٧-٢): التداخل بين بقايا البروتينيز والمثبطات المختلفة. العمود الأول يوضح مناطق البروتينيز المعرضة للمثبط. العمود الثاني يوضح لأي جيوب ارتباط للوسيط تساهم المنطقة. الأعمدة الثالثة والرابعة والخامسة يوضح البقايا داخل دوائر البروتينيز التي توجد في تلامس مع المثبط تبعاً Greenblatt et al., (1989), Song and Suh (1998) and Koepke et al., 2000. البقايا أخذت أرقام تبعاً لتسمية الكيموتربسين.

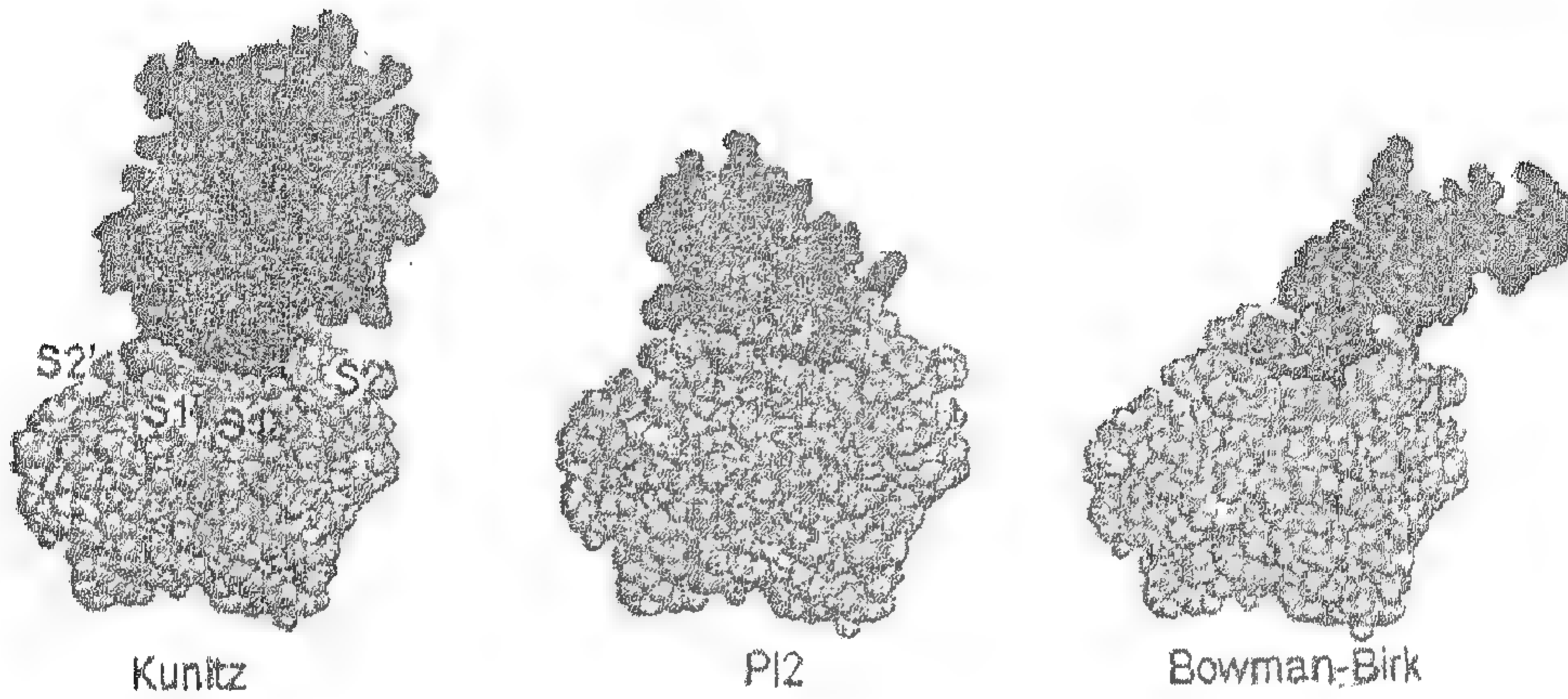
Region	Pocket	Contacts to SKTI	Contacts to PI-2	Contacts to BBI
--------	--------	------------------	------------------	-----------------

40 loop	S1' S2' S3'	40 – 42	38 – 42	41
	S1	57	57	57
60 loop	S1' S2	60	-	-
90 loop	S2	94,96,97,99,102	-	97,99
150 loop	S2'	151	-	-
170 loop	S2,S3,S4	-	-	-
	S1	189 – 195	169 , 171	-
217 loop	S3,S4,S5	214-217,219,220	214-217,219	213,215-217,219

٣-٢ - البروتينات متعددة الأصول والملكية : إذا لم تستطيع ردها أو ضربها ارتبط بها أو استبعادها

من الخصائص الإضافية المثيرة لمثبطات البروتينات النباتي ميلها للحدوث كبروتينات متعددة الأصول أو متعددة الملكية والتي تستهدف في الغالب البروتينات من الأقسام المختلفة وحتى الأميليزيس . لقد سبق مناقشة الموضوع من جراء ملاحظات مجموعة Terra من أن بعض إنزيمات الهضم لحشرة *Spodaptera frugiperda* تحدث على صورة متعددة الأصول معقدة . من أحد الفرضيات أنه إذا كانت كلا المثبطات والبروتينات / أميليزيس (متعددة الأصول) واثنان أو أكثر من جوانب التلامس أحدهما مع الآخر فإن هذا يؤدي إلى حدوث بلمرة في واحد أو أكثر من الأبعاد . هذا البوليمر للبروتين الملامس سيكون أقل فاعلية في توفير وسائط البروتين ومع درجات قليلة من الحرية ومن الأفضل منع تفرق معقد المثبط - الإنزيم في هذا الطريق فإن معقدات البروتينات - المثبط مع ثوابت تفرق فقيرة ستبقى فعالة في السيطرة على نشاط الإنزيم . الارتباطات متعددة الأصول والملكية للمثبطات قد تمثل صفة نشوية ذات ميزة للنبات . ليس واضحاً كيف أن الارتباطات متعددة الأصول لإنزيمات البروتينات تمثل ميزة للحشرة . لقد نوقش هذا الموضوع في دراسة ثانية على دودة اللوز الأمريكية (Brito et al., 2001) حيث وجد الباحث أن الصور متعددة الأصول للتربين تحفز بوجه خاص استجابة للمثبطات PI's ومن ثم تكون أقل حساسية لمثبطات PI's . هذا أدى بالبحاث لافتراض أن الارتباط متعدد الأصول قد يمسخها فراغياً ويجعلها أقل حساسية للمثبطات .

إذا كانت الإنزيمات معقدة ليس في الجدار ولكنه مع المواقع الفعالة جنباً إلى جنب مع بعضها فإن هذا بالتأكيد يخلق إمكانية حقيقية كما لوحظ سابقاً للتربيتيز الأدمي (Pereira et al., 1998). لذلك توجد طرق لكلا النباتات والحشرات للبروتيزيس المرتبطة أو المثبطات كى تزيد أو تقلل من التنشيط. مازال مطلوباً المزيد من البحث لتوضيح حقيقة ونجاح هذه الاستراتيجيات على كلا النبات والحشرة من المؤكد أن هذه الخصائص التركيبية تقدم بعداً إضافياً لدراسة وفهم هذا النوع من الدفاع النباتي.



الشكل (٧-٢): معقدات البروتينيز - المثبط. المعقدات الثلاثة تمثل بوسين تربسين فى معقد مع SKTI (اليسار) و PI-2 (فى الوسط) و BBI (اليمن). الإنزيم مظلّل بلون خفيف والمثبطات مظللة بسواد غامق. الإنزيمات من تراكيب أشعة - X الأصلية (تربسين بوسين البنكرياس فى حالة SKTI وبروتينيز B للأستربتومايسيس جريسيوس فى حالة PI-2 والتريبتسونجين بنكرياس البقر فى حالة BBI) جميعها يحدث لها إحلال بواسطة تربسين بنكرياس البوسين بواسطة الإحلال الجزيئى باستخدام مخلفات التحفيز كمنسقات ثابتة والتوجيه فى هذا المجال يكون متماثلاً مع الإنزيمات. مواقع الإنزيم S2', S1', S1', S2' موضحة فى تركيب كوينتز.

٤- الحشرات تناضل أو تقاوم رجياً The insect fight back

٤-١-٤ نشوء الاتسداد الاستراتى Evolution of steric occlusion

النباتات تشرك أقسام مختلفة من المثبطات حيث يفترض أنها تمثل استراتيجية للدفاع عن نفسها ضد هجوم الحشرات ومسببات الأمراض (Ryan, 1990). العديد من النباتات تنتج مثبطات بروتينيز عند حدوث الجروح وتملاً أعضاء تخزين البروتين مثل

البذور والثمار والدرنات مع مثبطات البروتينيز لجعلها غير مناسبة غذائيا لآكلات النباتات . هذا ولو أن الحشرات التى تعتمد على البروتينات النباتية كمصدر للأحماض الأمينية والضغط الانتخابية القوية تعمل لتجنب فعل المثبطات . لقد ناقشنا قبلا الارتباطات عديدة الأصول كطريق يمكن أن ينشأ لتجنب دخول المثبطات فى المواقع الفعالة للبروتينيز . هذه الإمكانية مازالت فى نطاق الفرضيات ولو أنها مازالت فى حاجة لتقريب تجريبي . الاستراتيجية الثانية الموثقة جيداً نشأت أساساً فى الحشرات العامة مثل *Helicoverpa* وديدان الورد والتي تكيفت مع العديد من التراتيب والتحويلات فى المثبطات . الاستعمار الناجح للعديد من الأنواع النباتية المختلفة بواسطة هذه الحشرات تبنى على مقدرتها للتحويل إلى حزمة مختلفة من البروتينيز عندما وجود مثبطات البروتينيز فى غذائها . خصائص هذه الحزمة المحفزة من البروتينيز تتمثل فى عدم حساسيتها لمدى عريض من المثبطات . هذه الخاصية لوحظت بداية منذ حقبة زمنية مضت (Jongsma et al., 1995) ومنذ ذلك الوقت وجدت فى العديد من الآفات الحشرية (Bown et al., 1997, 2004 ; Mazumdar – Leighton and Roadway 2001 a; Volpicella et al., 2003) .

السؤال المطروح الآن : ما هى الأسباب التى حققت مقاومة هذه البروتينيز للتثبيط؟ عن طريق تحليل التعبير الجينى فى المعدة تم تعريف تتابعات البروتينيز الذى يحفز بمجرد تناول مثبطات البروتينيز . هذا ولو أنه فى غياب نظام التعبير المندمج لا يكون فى الإمكان تحليل نشاط المثبطات المختلفة للبروتينيز الفردية . لقد تم تنقية البروتينيز من معدة أكل النبات لتعريف البروتينيز السائدة المشتركة فى هذا التحول وتحليل تداخلاتها مع مثبطات النبات فى تحليل التثبيط وبواسطة نمذجة البروتين . البروتينيز فى معدة حشرة *Helicoverpa* التى تحفز بواسطة تناول SKTI تم مقارنتها بالإنزيمات المعزولة من الأمعاء غير المحفزة . أقسام هذه الإنزيمات متساوية النشاط على الوسائط البروتينية ولكنها تختلف بشكل متناهى فى حساسيتها للمثبطات من الأربعة أقسام ولكنها تختلف بشكل متناهى فى حساسيتها للمثبطات من الأربعة أقسام

المختلفة . التربسين السائد المعزول من الأمعاء المحفزة بمركب SKTI كان غير حساس بشكل كامل لتركيز أكبر ١٠٠٠ مرة من أى من المثبطات الأربعة المختبرة وكان كل منها ذات تراكيب مختلفة لمرات عديدة . من جهة أخرى لوحظت إنزيمات ذات درجات حساسة مختلفة لأقسام المثبطات المختلفة . كمثال فإن الكيموتربسين المحفزة بواسطة SKTI كان أكثر حساسية لمثبطات PI-2 عن المثبطات الأخرى . أظهرت مجاميع أخرى اختلافات فى فاعلية المثبطات المشتقة من الفاصوليا والبطاطس للبروتينيز نصف المنقى فى حشرة H.ormigern . لقد أظهرت هذه النتائج أن حزمة من البروتينيز المختلفة يمكن أن تنتشر بواسطة الحشرات المتكيفة مع حساسية مختلفة للمثبط .

ماذا يجعل البروتينيز غير حساس للمثبط ؟ استخدام الوسائط المخلقة أظهرت اختلافات واضحة وثيقة الصلة بين الإنزيمات المحفزة بمركب SKTI والتكوينية . البنزويل - Arg - PNA الذى يحمل مجموعة بنزويل على الوضع P2 تم هضمه بكفاءة أقل عشر مرات بواسطة التربسين المحفز - SKTI بالمقارنة بالتربسين غير المحفز بينما الوسائط مع Phe أو Arg فى الوضع P2 لا تميز بين نوعى البروتينيز . لقد أدى ذلك إلى الاقتراح بأن خصائص تركيبية هامة توجد فى الموضع S2 للتربسين المحفز التى ترتبط بمقاومة للمثبطات . هذا ولو أن طبيعة أن ملامح التركيب لا يمكن أن تتحقق فى غياب نظام تعبير مدمج ناجح وتراكيب بلورية للبروتينات .

الرؤية التى لا لبس فيها فى الأساس التركيبى لمقاومة بورتيزيس فى الحشرات للمثبطات النباتية تم الحصول عليها لأول مرة من التركيب البلورى لإنزيم دودة اللوز الأمريكية الكربوكسى ببتيداز B (Bayes et al., 2005 , 2006) . هذا الإنزيم يشار إليه CPBH2 يقاوم التثبيط بواسطة مثبط كربوكسى ببتيداز البطاطس (PCI) الذى يثبط جميع الإنزيمات الأخرى المعروفة من هذا القسم بما فيها كربوكسى ببتيداز A لحشرة Helicoverpa (CPAH a) . التركيب البلورى CPBHZ يوضح مدارين على السطح للإنزيم مما يفترض موضع غير عادى بالمقارنة بالإنزيمات المثبطة بالمقارنة بالإنزيمات

المتبطة المرتبطة مثل CPAHa فى المعقدات ذات القابلية العالية فإن هذه المناطق تثبت التداخل بين الكربوكسى ببتيدياز والمتبط . هذا التداخل يتكون بداية بواسطة إدخال الذيل الطرفى - C المرن والمتبط PCI الذى يوجد بقايا PI , P1' لجيب الموقع النشط . هذا وبسبب إحلال هذه الدوائر على سطح الإنزيم فإن المتبط يرتبط بأكثر من موقع بعيد نسبياً عن الموقع الفعال . بالتتابع فإن مخلفات تكون غير قادرة على نفاذ الموقع الفعال بعمق كافى لتحقيق تداخل قوى ومن ثم يفقد التداخل بسهولة .

ميكانيكية النشوء التى يمكن خلالها يتجه البروتيزيس تجاه عدم الحساسية للمتبطات يمكن معرفته جزئياً بمقارنة التتابع الطفرى مع السلسلة الأقرب من الحساسية للمتبط PI . إحلال دوائر البروتيزيس تشترك فى العملية كما يتضح من تركيب CPBHZ . فى واحد أو اثنين من الدوائر يكون الإحلال مصحوباً بواسطة إدخال بقايا نسبية إلى الإنزيمات الحساسة - المتبط بينما فى دائرة أخرى فإن البقايا الفردية تشطب . فى كلا الدائرتان فإن عد الطفرات الملحوظة يكون أعلى بالمقارنة بالأجزاء الأخرى من الجزيء . من المثير للدهشة أن البعض قد يتنبأ بأن النبات سوف يعيد تثبيت CPBHZ بواسطة غرس بقايا إضافية فى الذيل شبيه الوسيط من PCI مما يسمح ببقايا PI بالوصول إلى حفرة الموقع النشط ولكن المتبط مع الذيل الممتد لم يوجد أو حدث له إنشاء .

٤-٢- فقد النشاط مع بروتيزيس خاصة

ولو أن هناك ثبات عام ضد العديد من البروتيزيس فإن بعض الحشرات تخلق بروتيزيس خاصة قادرة على هدم مثبطات بروتيزيس النبات بكفاءة . لقد لوحظت هذه الظاهرة حديثاً مع *Plutella xylostella* التى تهدم MTI-2 عندما يعبر عنها فى نباتات الأرابيدوبسيس . الآخرون وجدوا هدم لمثبطات البروتيزيس الغذائى بواسطة الحشرات مثل سوسة العنب السوداء ودودة اللوز الأمريكية .

٥- المنظورية Perspectives

٥-١- التشريع والتنظيم هو الأساس : هل الحشرات والنباتات كلاهما يفكر فيه ؟

Regulation is the Key : Did Insects and Plants Both Think of It?

وجود البروتيزيس غير الحساس للمثبط PI في معدة الحشرة والتنظيم الفائق الخاص في الاستجابة لمثبطات البروتيزيس في الغذاء تقدم فائدة واضحة للحشرة وهذا تم استكشافه بواسطة بعض أنواع الميكانيكية الرجعية والتي لم تتأكد بعد . هذا ولو أن الملاحظة المتوازية للإنزيمات الحساسة مازالت تحت مستوى التنظيم إلا أنها تكون نافعة لكلا الحشرات والنباتات على السواء . الحشرات لا تضع طاقتها على بروتيزيس غير نافعة (مثبطة) ولكن النباتات على نفس المنوال إذا كانت تحكم هذه العملية تستهلك طاقة أقل في تخليق تركيز فعال من المثبط . في الحقيقة فإن النباتات تستطيع وبنجاح تضاد نظام التنظيم الرجعي العامل في معى الحشرات للبروتيزيس الحساسة وغير الحساسة لمثبط PI وقد وجد فيها طريق ثانى مستقل للتثبيط المباشر لتحقيق نفس النتيجة الصافية : مستويات بروتيزيس منخفضة في المعدة مما يؤدي إلى تطور بطيء وموت أعلى . السطو على تنظيم البروتيزيس في معدة الحشرة والبحث في النباتات ومنعها من تحقيق هذا الهدف تمثل الهدف للحشرات : والمرحلة الثانية الجذابة لمعركة النشوء بين البروتيزيس والمثبطات .

السؤال المطروح الآن : هل النص مكتوب ؟ كيف هو ... هل النباتات أنشأت هذه الإشارات لغرض خاص يتمثل في التنظيم للبروتيزيس في الحشرات ؟ في الوقت الراهن يوجد قليل من هورمونات البيبتيد المعروفة للمستقبل الذى يعول التنظيم الأدنى أو الأعلى لبروتيزيس السيرين . فى الثدييات فإن بيبتيد المستكشف وهو أحد أفراد عائلة جين PSTI وعامل التحرر الضوئى أو التجويفى كولى سيستوكينين LCRF والمعروف عنه تنظيم عالى لإفراز بروتيز البنكرياس عن طريق تنشيط تحرر وانفراد كولى سيستوكينين فى الدم. زيادة البروتيزيس يهدم بالتبعية المستكشف / بيبتيدات LCRF وإيقاف الإفراز . فى البعوض فإنه بعد تناول وجبة الدم فإن هورمون Oostatic أو عامل نموذج التربسين لهذا الهورمون (TMOF) هو البيبتيد الوحيد الذى وجد وينظم التأثير الفعال لإفراز التربسين فى المعدة .

من الواضح أن بيبتيد TMOF الذى يتكون من عشرة أحماض أمينية فقط نشط وفعال كذلك فى أكلات الأوراق من رتبة حرشفية الأجنحة مثل دودة اللوز الأمريكية . TMOF ينظم قليلاً نشاط إفراز البروتيزيس عندما يحقن فى هيموليمف اليرقات (Nauen et al., 2001) ومن المدهش كذلك أنه عندما يعبر عنه فى النباتات يندمج مع البيبتيدات الأخرى وعندما يصل لليرقة خلال المعدة بعد أكل أوراق النبات . عندما يكون التعبير مؤشراً من خلال انقسام تكرار الأساسيات الستة أو إحلال السيستيمين فى بروسيسيمين أو فى دمج

الكربون الطرفي مع البروتين المغلف — TMV , TMOF فإنه يخفض من تطور اليرقات وينقص من كلاتر بسين المعدة أو نشاط الكيموتربسن .

ببتيد TMOF يفترض إشارات خلال التداخل مع المستقبلات التي توجد في الخلايا التي تبطن المعدة . هذا يوصلنا إلى المجال غير الواضح عن مثبطات البروتينات النباتي . هذه المستقبلات تعتبر كذلك أهداف مؤثرة لببتيدات النبات أو البروتينات لإفساد فسيولوجي المعدة : وظيفة أو وظائف الببتيدات ذات النتروجين أو الكربون الطرفي التي تمتد من معظم المثبط الأساسي مع النباتات الموصفة . الإمدادات تظهر في تباين كبير واضح كلاهما في الطول والتتابع داخل معظم عائلات جين المثبط . كمثال فإن الجدول (٣-٧) يوضح امتداد الببتيدات من الصور الناجحة لمثبطات بومان - بيرك التي توجد في فول السوداني وفول الصويا . هذه التتابعات تمثل ادخال متخصص و / أو شطب . الإمدادات لا يتضمن في المثبطات تحت خلوية المستهدفة حيث أن البروتينات الناجحة فقط اتضحت والببتيدات المستهدفة تم إزالتها فعلاً . الوظائف المؤثرة تشمل تحويل PI لجزيء البروتين لمؤازرة التداخل مع البروتين أو غيره والارتباط مع المستقبلات الخلوية التي تبطن معدة أكل الأوراق لمؤازرة أو تضاد عمليات التنظيم في الحشرة .

جدول (٣-٧) : مقارنة الببتيدات ذات النتروجين والكربون الطرفي لمثبطات بومان - بيرك في الفول السوداني وفول الصويا الممتد خارج المثبط الأساسي القاعدي والذي لم تسجل أي وظيفة له .

Source	Code ¹	N-terminal sequence ³	Inhibitor ²	C-terminal sequence ³
Soybean	MER21210	DQSSSYDDDEYSKPCC-	-inhibitor-	-CKSRDD
Soybean	Mer21212	SDHSSDDESSKPCC-	-inhibitor-	-CKSSDEDDDD
Soybean	MER19956	SDHHQHNSNDDSSKPCC-	-inhibitor-	-CKPSEDDKENY
Soybean	MER19957	SDHHQHNSNDESSKPCC-	-inhibitor-	-CKPSQDDKENY
Peanut	MER18102	EASSSDDNVCC-	-inhibitor-	-CRS
Peanut	MER18107	AASDCC-	-inhibitor-	-CA

1 Codes refer to the MEROPS protease inhibitor database : <http://mecrops.sanger.ac.uk/>

2 This represents the conserved two domains involved in protease inhibition

3 The sequence represent the mature stored form after removal of the signal peptide and other targeting peptides

References

- Abdeen A, Virgos A, Olivella E, Villanueva J, Aviles X, Gabarra R, Parl S (2005) Multiple insect resistance in transgenic tomato plants over-expressing two families of plant proteinase inhibitors. *Plant Mol Biol* 57:189-202
- Beekwilder J, Schipper B, Bakker P, Bosch D, Jongsma M (2000) Characterization of potato proteinase inhibitor II reactive site mutants. *Eur J Biochem* 267:1975-1984
- Bode W, Huber R (2000) Structural basis of the endoproteinase-protein inhibitor interaction. *Biochem Biophys Acta* 1477:241-255
- Brito LO, Lopes AR, Parra JRP, Terra WR, Silva MC (2001) Adaptation of tobacco budworm *Heliothis virescens* to proteinase inhibitors may be mediated by the synthesis of new proteinase. *Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol* 128:365-375
- Clauss MJ, Mitchell-Olds T (2004) Functional divergence in tandemly duplicated *Arabidopsis thaliana* trypsin inhibitor genes. *Genetics* 166:1419-1436
- De Leo F, Gallerani R (2002) The mustard trypsin inhibitor 2 affects the fertility of *Spodoptera littoralis* larvae fed on transgenic plants. *Insect Biochem Mol Biol* 32:489-496
- Ferry N, Edwards MG, Gatehouse J, Capell T, Christou P, Gatehouse AMR (2006) Transgenic plants for insect pest control: a forward looking scientific perspective. *Transgenic Res* 15:13-19
- Girard C, Le Metayer M, Bonade-Bottino M, Pham-Delegue MH, Jouanin L (1998) High level of resistance to proteinase inhibitors may be conferred by proteolytic cleavage in beetle larvae. *Insect Biochem Mol Biol* 28:229-237
- Green TR, Ryan CA (1972) Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves – possible defense mechanism against insects. *Science* 175:776-777
- Hilder VA, Gatehouse AMR, Sheerman SE, Barker RF, Boutler D (1987) A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. *Nature* 330:160-163
- Iwai K, Fushiki T, Fukuoka S (1988) Pancreatic-enzyme secretion mediated by novel peptide: monitor peptide hypothesis. *Pancreas* 3:720-728
- Jongsma MA, Bolter C (1997) The adaptation of insects to plant proteinase inhibitors. *J Insect Physiol* 43:885-895

- Kunitz M (1946) Crystalline soybean trypsin inhibitor. *J Gen Physiol* 29:149-154
- Liu YL, Salzman RA, Pankiw T, Zhu-Salzman K (2004) Transcriptional regulation in southern corn rootworm larvae challenged by soyacystatin N. *Insect Biochem Mol Biol* 34:1096-1077
- Michaud D (1997) Avoiding protease-mediated resistance in herbivores pests. *Trends Biotechnol* 15:4-6
- Moon J, Salzman RA, Ahn JE, Koiwa H, Zhu-Salzman K (2004) Transcriptional regulation in cowpea bruchid guts during adaptation to a plant defense protease inhibitor. *Insect Mol Biol* 13:283-291
- Nauen R, Sorge D, Sterner A, Borovsky D (2001) Tmof-like factor controls the biosynthesis of serine protease in the larval gut of *Heliothis virescens*. *Arch Insect Biochem Physiol* 47:169-180
- Pereira PJB, Bergner A, Macedo-Ribeiro S, Huber R, Matschiner G, Fritz H, Sommerhoff CP, Bode W (1998) Human B-tryptase is a ring-like tetramer with active sites facing a central pore. *Nature* 392:306-311
- Qu LJ, Chen J, Liu MH, Pan NS, Okamoto H, Lin ZZ, Li CY, Li DH, Wang JL, Zhu GF, Zhao X, Chen X, Gu HG, Chen ZL (2003) Molecular cloning and functional analysis of a novel type of Bowman-Birk inhibitor gene family in rice. *Plant Physiol* 133:560-570
- Ryan CA (1990) Protease inhibitors in plants – genes for improving defenses against insects and pathogens. *Ann Rev Phytopathol* 28:425-449
- Song HK, Suh SW (1998) Kunitz-type soybean trypsin inhibitor revisited: refined structure of its complex with porcine trypsin reveals an insight into the interaction between a homologous inhibitor from *Erythrina caffra* and tissue-type plasminogen activator. *J Mol Biol* 275:347-363
- Tortiglione C, Fogliano V, Ferracane R, Fanti P, Pennacchio F, Monti LM, Rao R (2003) An insect peptide engineered into the tomato prosystemin gene is released in transgenic tobacco plants and exerts biological activity. *Plant Mol Biol* 53:891-902
- Volpicella M, Ceci LR, Gallerani R, Jongsma MA, Beekwilder J (2001) Functional expression on bacteriophage of the mustard trypsin inhibitor MTI-2. *Biochem Biophys Res Commun* 280:813-817
- Yang L, Fang ZY, Ducke M, van Loon JJA, Jongsma MA (2008) The diamondback moth, *Plutella xylostella* specifically inactivates Mustard Trypsin Inhibitor 2(MTI2) to overcome host plant defense (submitted).
- Zimmermann P, Hirsch-Hoffmann M, Hennig L, Gruissem W (2004) Genevestigator. *Arabidopsis* microarray database and analysis toolbox. *Plant Physiol* 136:2621-2632

ثانياً : الأدوار الدفاعية لإنزيم فينول اكسيديز في النباتات

Defensive Roles of Polyphenol Oxidase in Plant. C. Peter Constabel and Raymond Barbehenn

البولى فينول اكسيديز (PPO's) النباتية تتوزع بشكل عريض وهى من إنزيمات الأكسدة التى درست جيداً كما أن تأثيراتها فى فقد الاخضرار فى الأنسجة النباتية التالفة والمريضة عرفت منذ سنوات طويلة . الاكتشاف الذى تحقق فى معمل C.A. Ryan's فى منتصف التسعينات بأن إنزيمات PPO فى الطماطم يحفز بواسطة إشارات الدفاع لآكلات الأوراق خاصة السيستمين والجسمونات مع الدراسات عن البذور المستقبلية على PPO's عن التأثيرات الممكنة على الحشرات آكلات النباتات بواسطة G.Felton , S.Duffey , نشطت العديد من الدراسات إلى PPO ودورها فى تحقيق الدفاعات النباتية ضد آكلات النباتات . كلونة وتوصيف DNAs , PPO من الأنواع النباتية العديدة سمحت بإجراء اختبارات مباشرة فى الوقت الحالى عن وظائف الدفاع لإنزيمات PPO باستخدام النباتات المتحولة وراثياً . أوضحت هذه الدراسات أن PPO تساهم فى مقاومة آكلات النباتات ومسببات الأمراض النباتية ولو أن كيفية حدوث ذلك مازال فى مرحلة الدراسة المستفيضة . فى هذا المقام سوف نستعرض التقدم فى تحليل وظائف إنزيمات PPO فى الدفاع النباتى ضد الآفات ووصف الدراسات التى تناولت ميكانيكيات هذه الإنزيمات كبروتين مضاد لآكلات الأوراق . هناك اقتراح بأن الفرضيات بكيفية عمل PPO فى الدفاع كمضادات للتغذية ضد حشرات حرشفية الأجنحة فى حاجة لإعادة الفحص فى ضوء الظروف القريبة من اللا هوائية فى معدة حشرات حرشفية الأجنحة . فى النهاية يجب إجراء اختبارات مباشرة عن فاعلية PPO فى أنواع عديدة من التداخلات بين النبات والحشرة . بالإضافة إلى ذلك فإن تعريف الوسائط الداخلية لإنزيمات PPO سوف تساعد فى تعريف الأدوار الدفاعية وغيرها لهذه الإنزيمات فى النباتات .

C.P. Constabel

Centre of Forest Biology and Department of Biology , University of Victoria , Victoria , BC , Canada V8W3N5 .

e-mail : cpc@uvic.ca

A. Schaller (ed.), Induced Plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١- مقدمة

إنزيمات البولي فينول اكسيديز PPO's هي إنزيمات محدودة الوجود تحتوى على النحاس حيث تستخدم الأكسجين الجزيئى لأكسدة مركبات أورثو - داي فينولييك الشائعة مثل حامض الكافيك والكاتيكول إلى الكينونات المقابلة PPO - الكينونات الناتجة عالية النشاط وقد تكون رابطة عبورية أو تؤكل البروتينات مما يؤدي إلى ظهور الصبغات البنية الشائعة في أنسجة النبات التالفة وفي المستخلصات النباتية . الصبغات الظاهرة غير مطلوبة في المنتجات الغذائية ودور PPO في التلوين البنى خطى بدراسات عديدة عن PPO في الغذاء والمشروبات . بالتوازي فإن الأدوار الهامة لإنزيمات PPO في دفاعات النباتات ضد الآفات خطية كذلك بالعديد من الدراسات عن PPO في النواحي الايكولوجية والقليل منها تناولت اقتراب الهندسة الوراثية . دراسات الوظائف والميكانيكيات عن PPO في التداخلات بين النبات والحشرة باستخدام PPO في النباتات المحورة وراثياً تعاضمت في الوقت الراهن مما أدى إلى ظهور رؤية جديدة في بيولوجية هذا الإنزيم واسع الجوانب .

٢- الكيمياء الحيوية للبولي فينول اكسيديز النباتي

إنزيم بولي فينول اكسيديز (كاتيكول اكسيديز E.C.1.10.3.2) تم تنقيته وتوصيفه من مدى عريض من الأنواع النباتية والأنسجة وقد وجد أن مستويات النشاط مع استخدام الوسائط الشائعة تتفاوت بشكل عريض . الخصائص المميزة لإنزيمات PPO's تتمثل في اثنين من ارتباطات النحاس السائدة وكذلك كلوروبلاست بها فتروجين طرفى وبيبتيدات انتقالية للثيلاكويد . حجم بروتينات PPO الناضج المتنبأ به يساوى 54-62 KD . هذا ولو أن بعض PPO's يحدث لها عمليات إضافية وفي بعض الحالات تكون المنتجات النهائية لهذه العمليات هي الصورة كاملة الفاعلية . لقد أمكن التنبؤ بأن العديد من PPO's تحتوى على موقع عمليات تحلل مائى للبروتين بالقرب من الكربون الطرفى للبيبتيدات العديدة (Marusek et al., 2006) .

بناء على ارتباط هذا الإنزيم بتفاعلات اللون البنى في النباتات فقد تم توصيف PPO في مدى عريض من النباتات الغذائية بما فيها الموز والقمح والأفوكادو والسفرجل وعدد من المثبطات الكيميائية تم تعريفها (Mayer . 2006) . كذلك وجد PPO بمستويات عالية من أنواع الثمار والخضراوات والحبوب ولكن وظيفته البيولوجية نادراً ما درست . PPO يعبر عنه في العديد من الأنسجة والأعضاء المختلفة بما فيها الجذور والأوراق والزهور والأنسجة الوعائية . وجود هذا الإنزيم من البلاستيدات الخضراء أدى إلى الاقتراح بأن PPO قد يؤدي وظيفته في الفسفرة كاذبة الحلقية أو كموجة أو منظم لمستويات الأكسجين وحتى الآن لا يوجد سوى القليل من الأدلة تعضد هذه الأدوار .

الإصدار المعقد عن وظيفة PPO يتمثل أو يشير إلى الموضع المنفصل لوسائطه الفينولية في تجاويف النبات ومن ثم فإن الخلية يجب أن تكسر لكي يقوم إنزيم PPO بأكسدة الفينولات وهذا يحدث بعد هجوم الآفة أو الممرض . لقد تمت مناقشة أدوار PPO في الدفاع النباتي ولم تتوفر أدلة مباشرة عن هذه الأدوار إلا حديثاً .

من الخصائص المحيرة لإنزيمات PPO درجة التباين في الكمون Latency ومن ثم فإن PPO's من بعض الأنواع يحتاج إلى تنشيط مع المنظفات أو البروتيزيس لتحقيق النشاط الكامل . كمثال فإن PPO أوراق الطماطم يستخلص بنشاط كامل ولكن PPO الأوراق الشائع يتطلب تنشيط مع البروتيزيس أو المنظف (Constabel et al., 2000) . لقد اقترحت الدراسات الحديثة أن معاملات التنشيط هذه تعمل بواسطة إزالة الببتيد من الموقع النشط عبر التحلل المائي للبروتين Proteolysis أو عدم الانثناء الجزئي للبولى ببتيد على التوالي . المعاملة بدرجة حموضة pH منخفضة تستطيع تنشيط إنزيمات PPO's الكامنة ويفترض أن يحدث ذلك عبر التغير التنسيقي للموقع النشط مما يزيد من استيعابه للوسائط (Kannade et al., 2006) . كمون PPO قد يكون مؤثراً لتحقيق وظيفتها الدفاعية . لقد ظهر حديثاً أن إنزيم PPO الشائع الكامن ينشط عن طريق مروره خلال معدة الديدان (Wang and Constabel , 2004) .

ذات تخصصية عريضة للوسيط . لذلك فإن الإنزيم من أي POP's من المعروف أن مصدر قد يكون قادراً على أكسدة أنواع من الأورثو - دايفينول مثل حامض كافيك ونواتج . هذا ولو أن (DOPA) اقترانه ومشتقات الكاتيكول أو ديهيدروكسي فينيل الانين الإنزيمات من أنواع نباتية مختلفة تحقق بروفيلات تفضيل متميزة . الفلافونويدز مع وكمثال PPO حلقات الأورثو - ديهيدروكسي فينوليك وجدت تعمل كوسائط لإنزيم كاتيشين (-) إيبى كاتيشين والميريستين . لقد وصفت بعض التقارير كذلك أكسدة تـراى ولكن لم PPO (Shin et al., 1997) هيدروكسي فينولات مثل حامض جالليك بواسطة PPO's يكن من الواضح كيف ينتشر ذلك بشكل عريض . بالإضافة إلى ذلك فإنه لبعض تم وصف نشاط مونوفينوليز . هذه الإنزيمات قد تحدث هيدروكسلة للمونوفينول مثل تيروسين والذي قد تحدث له أكسدة إضافية بواسطة نشاط إنزيم بولى فينيل اكسيديز إلى في حشيشة عنب الذئب حيث أن هذا PPO الكوينون . هيدروكسلة الثيوسين بواسطة (Gandia - Herrero et al., 2005) التفاعل يكون جزء من مسار التخليق الحيوى مؤدياً إلى البتالينز al., 2005).

بينما مدى الوسائط المقبولة بواسطة إنزيمات PPO's المعزولة يسهل تعريفها خارج النبات ولكن معلوماً أن الوسائط التي تستخدم في النباتات أو خلال تفاعلات الدفاع نادرة جداً . إسترات حامض الكافيك مثل حامض كلوروجينيك (كافبول كوينات) تعتبر وسائط

ممتازة لإنزيمات PPO وهى نواتج تمثيل ثانوية شائعة جداً . فى الطماطم والسبن تم تعريف حامض الكلوروجينيك كوسيط شائع لإنزيم PPO فى داخل النباتات . استترات حامض الكافيك محدودة الوجود كبادئات لجنين ولكن فى معظم الأنواع فإن هذه لا تتراكم بمستويات كافية حتى تعتبر وسائط لإنزيم PPO . فى نباتات *Populus trenuloides* يميل الكاتيكول للانفراد بواسطة هدم الجليكوسيدات الفينولية الوفيرة ومن ثم تكون موجودة أو متاحة كوسيط فى الأنسجة التالفة . مع معظم PPO's فإن الوسائط الداخلية غير معروفة . فائدة تعريف وسائط PPO فى النباتات وفهم النظام الشامل للكيمياء النباتية للنباتات التى تحتوى على PPO تم تأكيده بواسطة التقارير الحديثة عن الإنزيمات مثل PPO مع أدوار التخليق الحيوى كهيدروليزيس لنواتج التمثيل الثانوية (Nakayama et al., 2000 , Cho et al., 2003) .

لقد تمت دراسة PPO باستفاضة بواسطة البيولوجيون ورجالات الايكولوجى فى اتجاه ميكانيكيات الدفاع ضد الآفات والممرضات بناء على تفاعلات البنية Browning الناتجة من الكينونات المولدة لإنزيم PPO المتفاعل ومن ثم اقترح أن PPO فى الغالب يعمل للدفاع ضد الآفات والممرضات . من الأبحاث الأكثر إعجاباً تلك التى تناولت إلقاء الضوء عن فاعلية PPO تلك التى تحصل عليها من العمل على نباتات سولانوم بيرثالوتاي التى تحتوى على مستويات عالية من PPO (٤٥% من البروتين الذائب) والتى وجدت فى الأشواك العذبة . كسر الأشواك بواسطة الحشرات صغيرة الحجم مثل المنّ تؤدي إلى أكسدة سريعة تعال إنزيم PPO والبلمرة للفينولات . فى معظم الأنواع لو أن PPO وجد فى الأوراق وليس فى الأشواك ولكنه وجد فى خلايا الميزوفيل . فى هذا المقام فإن الكينونات الناشئة مع PPO اقترح أنها تؤكل البروتين الغذائى خلال تغذية الحشرة وتهدم الأحماض الأمينية الضرورية فى معدة الحشرات . الكلة البروتين التى تعال بإنزيم PPO أتضح أنها تعمل ضد الآفات من حرسفية الأجنحة فى وجود الأكسجين وفى الأطعمة الصناعية والآن أصبحت محل دراسة مستفيضة فى سوائل المعدة .

٣- إنزيمات PPO والدفاع المحفز لآكلات النباتات فى الطماطم والنباتات الأخرى

فكرة أن إنزيمات PPO قد تعمل كدفاعات مضادة للتغذية ضد الحشرات آكلة الأوراق اقترحت بداية بواسطة G.Felton و S.Duffey والذان أظهرتا ارتباط عكسى بين نمو حشرة دودة الذرة ومستويات PPO فى نباتات الطماطم . التعزيز القوي للدور المناهض لآكلات الأوراق الخاص بإنزيم PPO أتت من الكشف بأن جزيئات الإشارات المحفزة للدفاع ضد آكلات الأوراق المسماة سيستيمين والمثيل جسمونات (Me JA) تحفز نشاط PPO ومستويات PPO mRNA فى أوراق الطماطم . السيستيمين عبارة عن ببتيد قصير للتأشير عن الجرح الجهازى فى الطماطم والتى تنظم الدفاعات بشدة ضد آكلات

الأوراق في الطماطم . لذلك فإنه لن يكون هناك اعتبار للإشارة الجهازية الأولية حيث أنها مطلوبة لتوليد هذه الإشارة . لقد وجد أن PPO وغيره من الدفاعات تحفز بشدة بواسطة Me JA وحامض أوليجوجاك كتورونيك وهي مركبات تأشير الدفاع النباتي . حيث أن تحفيز PPO في الطماطم يحدث بواسطة تأشير متعدد بالتوازي مع حزمة من البروتينات المضادة لآكلات الأوراق بما فيها الأنواع العديدة من مثبطات البروتينيز (PIS) والإنزيمات المضادة للتغذية أرجينيز وثريونين دي امينيز (Bergey et al. 1996) والتي يعتقد أنها تلعب دوراً مشابهاً في الدفاع ضد الحشرات.

في الدخان فإن إنزيمات PPO والمثبطات PI's تنظم بشكل كبير بواسطة سيستيمين وكذلك بواسطة MeJA . على نفس المنوال أتضح حدوث تحفيز لإنزيمات PPO بواسطة آكلات الأوراق والجروح والمثيل جسمونات في أوراق العديد من الأنواع النباتية الشائعة . هجين الحور به استجابة دفاعية قوية محفزة جهازية والتي تشمل كذلك مثبطات التربسين والكتينيز وكلاهما مع أنشطة مؤكدة مضادة للحشرة (Parsons et al., 1989) . التجارب الحديثة على الجينومات على المستوى الكبير سجلت بقلة تعقيد استجابة دفاع آكلات الأوراق في هجين الحور والتي تتضمن تنظيم فائق في العديد من جينات الدفاع الإضافية المزعومة . بشمول أدى التحفيز المرافق لإنزيمات PPO مع بروتينات الدفاع في آكلات الأوراق في العديد من الأنواع النباتية إلى تعضيد وظيفته في مضادات آكلات العشب .

تحفيز PPO في الطماطم بواسطة كلا الحشرات و Me JA تكررت في دراسات معملية وحقلية (Stout et al., 1998) . بالإضافة إلى ذلك فإن العمل المبكر في دراسات التنشيط العديدة في الطماطم على PPO المحفز كان شاملاً وفي أنواع نباتية متنوعة . تحفيز PPO بواسطة الجروح أو المعاملة بالمثيل جسمونات تأكد في نباتات أخرى بما فيها الحشائش والأشجار . تحفيز PPO بواسطة آكلات الأوراق أصبح واضحاً في التنوع التقسيمي لمجموعة النباتات (جدول ٧-٣) وقد تم استقراء هذا التحفيز بشكل شائع على أنه استجابة مباشرة ضد آكلات الأوراق على العكس فإن دراسات التأثير القوي لإنزيم PPO المحفز ضد آكلات الأوراق أجرت مع مدى محدود في النباتات و آكلات الأوراق بداية مع ديدان حرشفية الأجنحة على الطماطم والأنواع الأخرى في الباذنجانيات (جدول ٧-٤) . نتائج ١١ تجربة من مجموع ١٦ تجربة أظهر أن تحفيز PPO يتوافق مع فرضية أن PPO المحفز يساهم في الدفاع ضد آكلات الأوراق . كما هو الحال مع الدراسات المرتبطة فإنه من غير الممكن تحديد التأثير الخاص لإنزيم PPO المحفز على آكلات الأوراق بسبب التغيرات البيوكيميائية الأخرى التي تحدث في النباتات التالفة . التأثيرات المباشرة لإنزيم PPO على آكلات النباتات الحشرية اختبرت بشكل أفضل

باستخدام النباتات المهندسة وراثياً حيث يحدث مناورة بمستويات PPO بشكل مستقل عن الصفات الأخرى .

جدول (٣-٧) : دراسات تحفيز PPO فى النباتات بواسطة آكلات النباتات مع تأثيرات غير معروفة عن آكلات النباتات .

Plant taxa	Insect species (Order) ¹	Induction	Reference
Solanaceae			
Tomato	<i>Leptinotarsa decemlineata</i> (C)	~ 2X	Felton (1992)
Potato	<i>L. decemlineata regurgitant</i>	~ 3 – 7X	Kuzmane et al.(2002)
Solanaceae			
Poplar (hybrid)	<i>Malacosoma disstria</i> (L)	~ 12X	Constabel et al(200)
Betulaceae			
Black alder	<i>Agelastica</i> (C)	~ 3X	Tscharnke et al(2000)
Poaceae			
Buffalograss	<i>Blissus occiduus</i> (H)	None	Heng-Moss et al . (2004)
Barle , wheat , oats	<i>Diuraphis noxia</i> (HO)	None	Ni et al . (2001)
Fabacea			
Common bean	<i>Melanoplus differentialis</i> (O)	~ 2X	Alba-Meraz and Choe (2002)
Soybean	<i>Helicoverpa zea</i> (L)	None	Bi and Felton (1995)
Soybean	<i>Ceratoma trifurcate</i> (C)	None	Felton et al . (1994)
Soybean	<i>Spissistilus festinus</i> (H)	1.6X	Felton et al . (1994)
Malvaceae			
Cotton	<i>Helicoverpa zea</i> (L)	Not detectable	Bi et al. (1997)
Theaceae			
Tea	<i>Helopeltis theivora</i> (H)	~ 2-3X	Chakraborty and Chakraborty (2005)

¹C – Coleoptera , L = Lepidoptera , H = Heteroptera , Ho = Homoptera , O = Orthoptera .

الدراسات الأخرى عن الارتباط بين نشاط PPO وأداء آكلات الأوراق النباتية باستخدام :

- ١- الطرز الوراثية التي تتفاوت في المقاومة لآكلات الأوراق .
- ٢- التباين في التطور الوجودي Onogenic الوراثي في نشاط PPO داخل النبات.

٣- الأوراق المعاملة بإنزيم PPO أعطت نتائج متباينة .

الطرز الجيني في البطاطس مع النشاط العالي لإنزيم PPO زادت من المقاومة ضد خنفساء كلورادو في البطاطس بينما المقاومة لصانعات الأوراق في البن لم تتأثر بشكل واضح بواسطة المستويات العالية من PPO في أوراق البن . معدلات النمو النسبية ليرقات ديدان الذرة وجدت مرتبطة سالبياً مع مستويات PPO في أوراق وثمار الطماطم (Felton et al., 1989) بينما ليرقات *Manuca quinquemaculata* أظهرت أداء أكبر على أوراق الدخان الصغيرة والتي تحتوى على مستويات عالية من PPO . ليرقات *Lynantria dispar* لم تتأثر بواسطة الزيادة ٨ أمثال في مستويات PPO باستخدام PPO عيش الغراب على سطح الأوراق (Barbehenn et al., 2007) .

ارتباطات نشاط إنزيم PPO مع الدفاع تأكد بواسطة تعقيدات عائلات جين PPO . كمثال فإن جينوم الحور يحتوى على العديد من جينات PPO من ١٠ - ١٢ وحتى الآن لم تدرس سوى ثلاثة من جينات PPO . الجين *Ptdpp1* يعبر عنه قصرياً في الأوراق التالفة أو المضارة بينما الجينان *Ptdpp02* , *Ptdpp03* يعبر عنهما دوماً في السيقان والبتلات أو الجذور . الجينان *Ptdpp01* , *Ptdpp02* قبالان للتحفيز ولكن في الأنسجة المختلفة . التعبير الخاص لإنزيم PPO في الأنسجة درس بعناية في الطماطم حيث تم توصيف سبعة جينات للإنزيم بواسطة ستيفان ومعاونوه (Steffens et al., 1999) . في دراسة رائعة استخدم فيها اندماجات GUS المحفزة والتهجين في الداخل والموضعية المناعية تم وضع نظام للتعبير الخاص للنظام المعقد بين الخلية والنسيج . كل إنزيم PO أظهر تعبير متميز البروفيل ولكن واحد على الأقل من جين PPO أظهرت تعبير تكويني لأي نسيج محدد . من المثير للاهتمام أن جين F – PPO فقط وجد يحفز بواسطة آكلات الأوراق . بالإضافة إلى سيسيتين و Me JA فإن المرض وإشارات الإجهاد اللا حيوى مثل حامض السلسيليك والاثيلين وجد أنها تنظم F – PPO في توافق مع الأدوار الإضافية لإنزيم PPO في المرض وغيرها من المقاومة مع الإجهادات الأخرى . بوجه عام فإن نظم التعبير المتنوعة لإنزيم PPO في الطماطم والحور استجابة لكلا إشارات التطور

والإجهاد أوضحت أن PPO له وظائف إضافية ترتبط بالإجهاد في النظم أو المواقف المختلفة .

جدول (٤-٧) : تحفيز PPO في النباتات مع التأثيرات المختبرة ضد آكلات النباتات

Plant taxa	Inducing agent (order) ¹	Induction	Effect	Herbivore ¹ and response ²	Reference
Solanaceae					
Tomato	<i>Helicoverpa zea</i> (L)	~ 2X	(-)	<i>Spodoptera exigua</i> (L) GR	Stout et al.(1998)
Tomato	<i>Helicoverpa zea</i> (L)	~ 2X	(-)	Spider mite (A) numbers	Stout et al.(1998)
Tomato	<i>Jasmonic acid</i>	~ 3X	(0)	<i>Manduca sexta</i> (L) RGR	Thaler et al. (2002)
Tomato	<i>Jasmonic acid</i>	~ 3X	(-)	<i>Trichoplusia ni</i> (L) RGR	Thaler et al. (2002)
Tomato	<i>Jasmonic acid</i>	~ 3X	(-)	Thrips (T) damage	Thaler et al. (1999 , 2002)
Tomato	<i>Jasmonic acid</i>	~ 3X	(-)	Spider mite (A) numbers	Thaler et al. (2002)
Tomato (wild)	<i>Jasmonic acid</i>	~ 3X	(0)	<i>Spodoptera exigua</i> (L) RGR	Thaler et al. (2002)
Tomato	<i>Jasmonic acid</i>	~ 3X	(-)	<i>Spodoptera exigua</i> (L) RGR	Thaler et al. (1999)
Tomato	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> (H)	Decreased	(+)	<i>Spodoptera exigua</i> (L) RGR	Stout et al. (1998)
Tomato	Wind stress	Decreased	(0)	<i>Manduca sexta</i> (L) RGR	Cipollini and Redman (1999)
Tomato	<i>Jasmonic acid</i>	~ 2X	(-)	<i>Manduca sexta</i> (L) RGR	Redman et al. (2001)
Tobacco (wild)	Clipped sagebrush	~ 4X	(-)	Field damage by (L) and (0)	Karban et al. (2000)
Potato (wild)	High constitutive PO	~ 4-7X	(-)	<i>Leptinotarsa decemlineata</i> (C) RGR	Castanera et al. (1996)

جدول (٤-٧) : تحفيز PPO في النباتات مع التأثيرات المختبرة ضد آكلات النباتات					
Plant taxa	Inducing agent (order) ¹	Induction	Effect	Herbivore ¹ and response ²	Reference
Horsenettle	High N fertilizer	Decreased	(0)	<i>Monduca sexta</i> (L) herbivory	Cipollini et al. (2002)
Horsenettle	High N fertilizer	Decreased	(0)	<i>Epitrix sp.</i> (C) herbivory	Cipollini et al. (2002)
Betulaceae					
Mountain birch	<i>Epirrita autumnata</i> (L)	~ 3X	(-)	<i>Epirrita autumnata</i> (L) RGR	Ruuhola and Yang (2006)

¹C = Coleoptera , L = Lepidopteraa , O = Orthoptera , T = Thysanoptera , A = Arachnida .

²GR = growth rate (mg / day) , RGR = relative growth rate (mg / mg / day).

٤- بعض الوظائف الدفاعية لإنزيم PPO كما ظهرت في نباتات الطماطم والحدود المهندسة وراثياً

في الطماطم والحدود وجد أن تحفيز وتنظيم PPO في الاستجابة الدفاعية لآكلات الأوراق توازياً مع العديد من جينات الدفاع المؤكدة يقدم دليل غير مباشر عن دوره في الدفاع (بواسطة الارتباط) . هذا ولو أنه من الممكن أن PPO المحفز بواسطة آكلات الأوراق يساهم في التئام الجروح والدفاع ضد مسببات الأمراض النباتية عما هو الحال مع الدفاع المباشر ضد الحشرات . تيسر PPO cDNAs من الأنواع النباتية العريضة سهلت وغرست هذا الاقتراب في الأنواع الحساسة للتحويل الوراثي . بناء على الاهتمام التجارى بدور PPO في التحويل للون البنى حيث أشارت العديد من الدراسات إلى خفض تضاد الحس الناجح لإنزيمات PPO في درنات البطاطس وثمار التفاح . على العكس فإن التعبير الزائد لإنزيم PPO في قصب السكر المعدل وراثياً أدى إلى إنتاج عصير غامق . هذا ولو أن النباتات المخورة مع PPO لم تستخدم لإثارة التساؤلات عن الوظائف الحيوية أو الدفاعات النباتية .

الأدوار الدفاعية لإنزيم PPO اختبرت لأول مرة بشكل مباشر مع نباتات الطماطم عظيمة التعبير مع PPO والتي أظهرت مواضع قليلة ومقاومة زائدة للممرض البكتيرى بسيدوموناس سيرنجيا بينما الطماطم منخفضة PP المعتاد للحساس أظهرت حساسية أعلى (تضاعف بكتيرى ومواقع ضرر أكثر) . هذه النباتات تقدم أقوى تعضيد حتى الآن عن الدور الدفاعى لإنزيم PPO ضد الحشرات آكلات الأوراق . يرقات دودة اللوز

الأمريكية ودودة ورق القطن أظهرت تأثيرات سلبية عن النمو عندما تغذت على خطوط نباتية منخفضة PPO . في نباتات Populus المحورة وراثياً فإن التعبير الزائد لجين PPO المحفز في الأوراق في خطوط PPO لأشجار الحور سهلت التقييم الحيوى لإثبات أدوار PPO ضد الديدان التى تتغذى على الأشجار . هذه الدراسات أسفرت عن نتائج مختلطة . ديدان العمر الأول لحشرة Malacosona disstria خفضت من معدلات النمو على الحور ذات مستوى PPO المتزايد ولكن عندما أجريت التجارب فى الخريف يفترض أن يؤدي إلى خفض عنفوانية الديدان . على نفس المنوال فإن يرقات العمر الرابع لحشرة L.dispar انخفضت معدلات نموها على الحور ذات الإنزيم PPO العالى فى الشتاء . يبدو أن التأثيرات القليلة والمتفاوتة للزيادات الكبيرة فى نشاط PPO فى الحور (٤ - ٤٠ ضعف زيادة) تجعل PPO المحفز وحده غير فعال فى الدفاع ضد هذه الديدان التى تتغذى على الأشجار .

الاختلافات فى الفاعلية الظاهرة للتعبير الفائق لإنزيم PPO فى الطماطم فى مقابل الحور قد ترجع لعوامل عديدة منها الحساسيات المختلفة للحشرات المختبرة . الموضع الخلوى الخاص لإنزيم PPO قد يكون هاماً كذلك حيث وجد فى الطماطم أن النسبة الكبيرة للتعبير الفائق لإنزيم PPO قبل الأكسدة للفينولات وتجنب البيئة قليلة الأكسجين فى المعدة . على نفس المنوال فإن الأكسدة السريعة للفينولات فى الطماطم قد توازر بواسطة نقص الكمون مع الطماطم ولكن ليس مع إنزيم الحور .

التعبير الفائق لإنزيم PPO فى الحور المحور وراثياً يعتبر وسيلة مفيدة لجس النواحي الأخرى لإنزيم PPO مثل ثباته بعد التناول . بروتينات الدفاع تم التنبؤ بثباتها النسبى فى الظروف القاسية فى نظم الهضم فى الحشرات واسترجاع كميات كبيرة من PPO فى إخراج دودة الغابات التى تتغذى على الأوراق فى النباتات المهندسة وراثياً فى ثبات وتوافق مع هذا التوقع على عكس PPO المستخلص من الأوراق وقد وجد أن PPO فى مستخلصات البراز كانت كاملة النشاط . أظهر التحليل الإحصائى باستخدام PPO مع الأجسام المضادة الخاصة أن PPO فى البراز تهاجر عند وزن جزيئى منخفض مما يوضح أن عملية التحلل المائى للبروتين عند الموضع المتميز تحدث فى المعدة . كما ذكر قبل أن PPO يلاحظ تكرارياً بحيث تملك مواقع عمل لتحلل البروتين ذات الكربون الطرفى . التأثيرات البيولوجية لنشاط PPO بواسطة إنزيمات المعدة غير واضحة ولكنها قد تؤثر على فاعليتها .

٥- نشاط PPO ضد الحشرات : ميكانيكيات الفعل والمحدودية

العديد من دراسات تحفيز إنزيم PPO بواسطة أكالات النباتات تعضد وتؤازر الاعتقاد العام بأن إنزيمات PPO's تلعب دوراً محورياً فى الدفاع ضد أكالات النباتات .

ولو أنه منذ دراسات الباحث Felton ومعاونوه ١٩٨٩ ، ١٩٩٢ كانت هناك ندرة فى الدراسات المتعلقة بكيفية إحداث الفعل لإنزيمات PPO's التى يتم تناولها . لقد تم اقتراح ثلاثة ميكانيكيات على الأقل التى عن طريقها تؤثر PPO على أكلات النباتات الحشرية :

١- PPO التى تولد الكينونات حيث تحدث الكلة للأحماض الأمينية الضرورية مما ينقص من الجودة الغذائية .

٢- دورة اختزال الكينونات قد تنتج إجهاد تأكسدى فى بطانة المعدة .

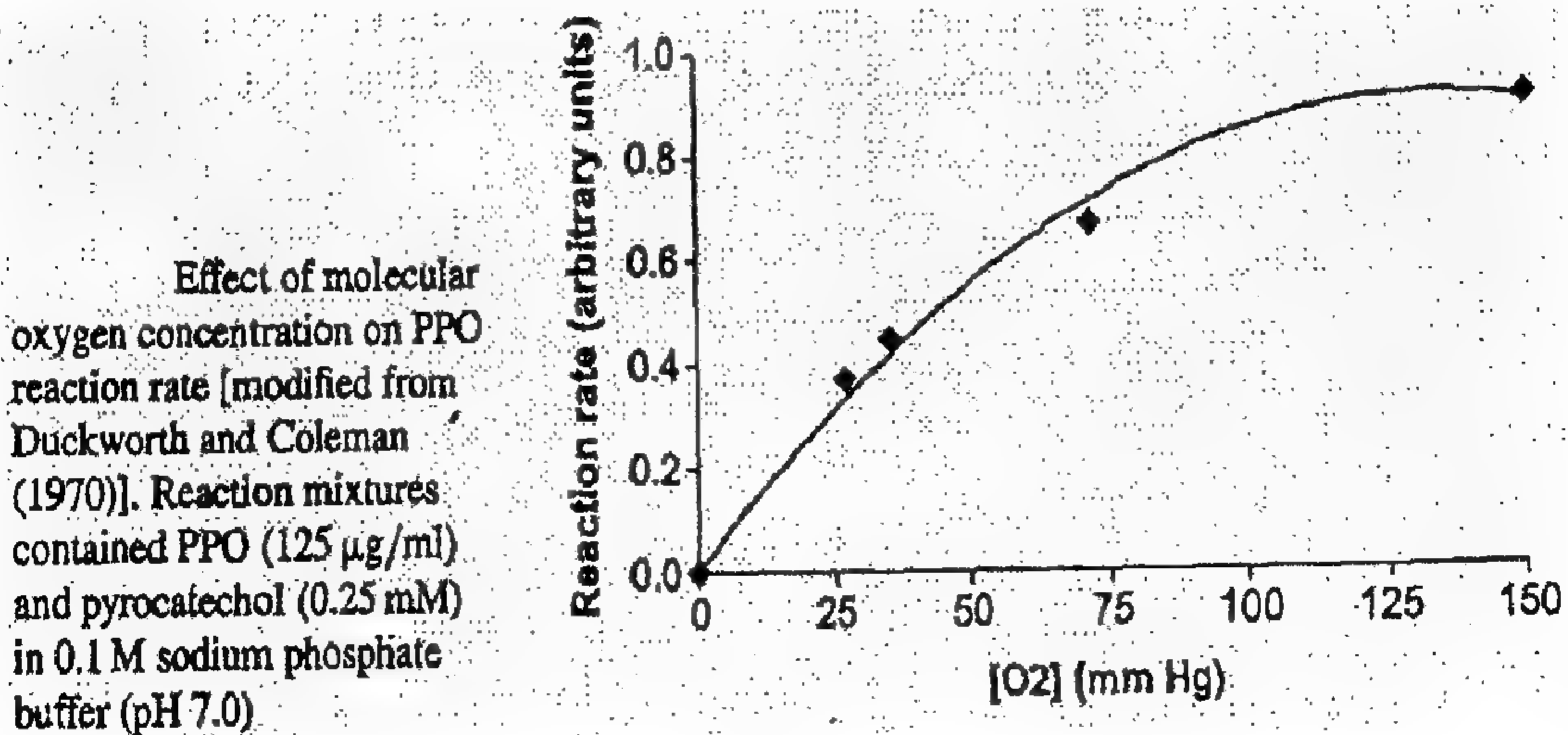
٣- نواتج أكسدة الفينولات مثل الكينونات وأنواع الأكسجين المتفاعل (فوق أكسيد الايدروجين) الذى ينتج بواسطة دورة اختزال الكينون والذى يمتص ويحدث تأثيرات سامة على أكلات الأوراق .

الدراسات التى أجريت على هذه الميكانيكيات فى الحشرات آكلة النباتات سوف يتم تلخيصه فى هذا المقام.

كما أتضح فى الأصل بواسطة (1989) Felton et al., وكذلك ١٩٩٢ من أن إنزيم PPO يستطيع خفض المباشر لجودة البروتين فى الخارج عندما يتم تحصينه مع البروتين الغذائى وحمض الكلورجينيك مع وجود الأكسجين المحيط على درجة حموضة (٧) . الكلة الأحماض الأمينية الضرورية مع الكينونات تحت هذه الظروف تخفض بشكل كبير من أداء يرقات حرشفية الأجنحة وقد وجد أن أعلى من ٥٠% من حامض الكلوروجينيسيك المعلم إشعاعياً مرتبط على البروتين فى براز اليرقات التى تغذت على أوراق الطماطم . البيئات ذات الحموضة العالية مثل المعدة فى حرشفية الأجنحة تؤازر الكلة البروتين والعديد من الأحماض الأمينية الضرورية (ليسين - هستيدين - سيستين - ميثيونين) وهى حساسة بوجه خاص لأكلة الكينون . تحت الظروف المناسبة لنشاط PPO يكون لهذا الإنزيم تأثير على جودة البروتين الغذائى . هذا ولو أن العوامل المحددة فى الجهاز الهضمى للحشرات قد يكون مستويات منخفضة من الأكسجين ووجود مضادات الأكسدة مثل الأسكوربات والجلوتاثيون . من التأثيرات المؤثرة الأخرى لإنزيم PPO هو زيادة إجهاد الأكسدة فى بطانة المعدة والتى فحصت حديثاً باستخدام أوراق الحور فائق التعبير . المستويات العالية من PPO ذات تأثير قليل على مستويات البروتينات المؤكسدة الملاحظة أو مستويات شارد السيمى كينون فى اثنين من أنواع الديدان التى تتغذى على الأشجار . تغطية أقراص أوراق النبات بإنزيم PPO التجارى (التيروسينيز الفطرى) لم ينتج زيادة فى مستويات شارد السيمى كونيون . لقد أدت هذه النتائج إلى الاقتراح بحدوث زيادة قليلة فى تكوين الكينون بعد تناول مستويات عالية من PPO فى الحور على عكس التوقعات المبينة على توقعات فلتون وآخرون (١٩٨٩ ، ١٩٩٢) والدراسات السابقة عن دودة الغابات . على العكس أظهر الباحث Thipyapong ومعاونوه نقص معدلات النمو

وخفض المقومات الغذائية لبعض ديدان حرشفية الأجنحة على خطوط الطماطم فائقة التعبير بإنزيم PPO فى توافق مع ميكانيكية أو ميكانيكيات بعد التناول لنشاط إنزيم PPO. لا توجد أية معلومات متوفرة عن التأثير الكبير لإنزيم PPO على الإجهاد التأكسدى أو السمية على مستوى النسيج فى الحشرات .

نشاط أو فاعلية إنزيم PPO الذى يتم تناوله يعتمد على البيئة الكيميائية لمعدة الحشرة مثل مستويات الأكسجين والوسيط الفينولى ووسائل الاختزال والمثبطات ودرجة الحموضة. من المدهش أنه لم تجرى سوى دراسات قليلة لتحديد كيف تؤثر الظروف الفسيولوجية الموجودة فى سوائل معدة الحشرة على تفاعلات PPO وتفاعلات الدفاع الأخرى . الوسائط الفينولية يجب أن توجد حتى يكون PPO فعالاً ولكن لسوء الطالع فإن هذه الوسائط لم تقدر ولكن افترض وجودها بمستويات كافية . على نفس المنوال فإن الأكسجين الجزيئى مطلب أساسى مطلق لإنزيم PPO ونشاطه يتوقف بواسطة إزالة الأكسجين من مخلوط التفاعل (الشكل ٧-٣) . من المؤكد أن محتويات معدة الديدان ونشاطات الأوراق تحتوى على تركيزات ثابتة من الأكسجين وفى بعض الأحيان تكون لا هوائية . قطرات الأكسجين من المستويات المحيطة ١٥٠ ملليمتر زئبق (٢١%) وحتى ١٠ ملليمتر زئبق (١,٤ %) على بعد مسافة ملليمترات عديدة فى المعى الأمامى لبعض الديدان . مستويات أكسجين المعى الأوسط من ٠,١ - ٠,٥ ملليمتر زئبق التى توجد فى العديد من الأنواع ويتوقع أن تنقص أنشطة PPO لأقل من ١% من المعدلات القصوى لإنزيم PPO عند مستويات الأكسجين المحيطة (الشكل ٧-٣) . بعض أنواع الديدان تحتوى على معى أمامى ضخمة بها مستويات أكسجين عالية عن المعدة الوسطى . لقد أتضح من دراسة على حشرة *Lymantria dispar* دليل ضعيف عن التأثير الشديد لإنزيم PPO . التيسر المحدود للأكسجين فى المعدة الوسطى للعديد من الحشرات يجب أن يظل فى الأذهان عندما يستخدم بروتينات منقاة أو أنسجة أوراق مهروسة لعمليات النمذجة الكيميائية داخل أكلات الأوراق . حيث يكون هناك تأثير لإنزيم PPO على أكلات الأوراق فإنه يكون هناك جدل عن عوامل محددة فى كيفية إحداث الفعل قبل التناول .



شكل (٧-٣) : تأثير تركيز الأكسجين الجزيئي على معدل تفاعل إنزيم PPO . مخاليط التفاعل تحتوي PPO (١٢٥ ميكروجرام / مليلتر) والبيروفياتيكل (٠,٢٥ ملليمول) في ٠,١ مول فوسفات صوديوم المنظم (درجة الحموضة ٧) .

ولو أن درجة الحموضة الملائمة لإنزيمات PPO's واسعة الشيوخ فإن نشاط وتفاعلية الكينونات مع الأحماض الأمينية في الوسط الحامضي تقل بشكل كبير . لذلك خلص (Felton et al., 1992) أن إنزيمات PPO's غير فعالة ضد خنفساء كلورادو البطاطس بسبب درجة الحموضة المنخفضة (٥,٥ - ٦,٥ pH) في المعى الأوسط للخنفساء . تمشياً مع هذا الاستنتاج لم يسجل نقص معنوي كبير في مستويات أربعة أحماض أمينية ضرورية في براز حشرة *L.decemlineata* التي تغذت على أوراق البطاطس من الأصناف ذات المستويات العالية من PPO (Castanera et al., 1996) . درجة حموضة النطاطات حامضية ولكننا لا نعرف عن الدراسات التي استهدفت إلقاء الضوء عن تأثيرات إنزيم PPO في رتبة مستقيمة الأجنحة . درجة الحموضة العالية وجدت في معدة حرشفية الأجنحة (٩ - ١٠ pH) ويتوقع أنها تنقص أنشطة إنزيم PPO الذي تم تناوله ولكن الظروف القاعدية توازن الكلة البروتين (Felton et al., 1989) .

لقد أدت الدراسات التي أجريت بواسطة علماء التغذية إلى تعريف العديد من مثبطات PPO التي تخفض من بنية الأطعمة المجهزة . من بين هذه المثبطات الأسكوربات محدودة الوجود في الأوراق ولكنها توجد بمستويات عالية ويحدث له تناول مرافق مع PPO .

عندما توجد في سائل المعى الأوسط أو مخاليط التفاعل في الخارج *In vitro* بتركيز ٠,٢ - ٠,٥ ملليمول فإن الأسكوربات تستطيع الاختزال الكيميائي للكينونات وقواعد سيمي كينون ومن ثم تحد من فاعلية PPO كوسيلة دفاع تأكسدية . مستويات الأسكوربات في سوائل المعى الأوسط للديدان التي تتغذى على الأشجار والتي تتغذى على الحور الرجراج والبلوط الأحمر والمجموع الخضري لهجن الحور تكون عالية بدرجة كافية لمنع إنتاج الكينونات بواسطة إنزيم PPO (Barbehenn et al., 2003 , 2007) . بالإضافة إلى ذلك فإن نظام تدوير الأسكوربات يعتبر مركزي للدفاعات الخاصة بمضادات الأكسدة للديدان التي تتغذى على الأشجار . هذا ولو أنه من غير المعروف ما إذا كانت الأسكوربات التي يتم تناولها بواسطة الديدان التي تتغذى على الطماطم مثل حرشفية الأجنحة تصان في سائل معدتها بمستويات كافية لتنشيط PPO .

الثيولات مثل الجلوتاثيون والسيستين تخفض كذلك من الإنتاج الصافي لكينونات بواسطة PPO وقد تثبط الإنزيم مباشرة (Negishi and Ozausa , 2000) . في

الأوراق يصل تركيزات الجلوتاثيون تقريباً ٥% زيادة عن مستويات الأسكوربات ولكنه قد يتساوى مع مستويات الأسكوربات في سوائل المعدة الديدان جلوتاثيون المعى الأوسط بتركيز ٥٠ - ١٠٠ ميكرومول في الديدان التي تتغذى على الأشجار تكون عالية بما فيه الكفاية من الناحية النظرية لتثبيط نشاط PPO (Nagai and Suzuki 2003) ولو أنه من الواضح أن المستويات العالية من السيستين ضرورية لتثبيط PPO من بعض النباتات . مثبطات PPO القوية الأخرى تشمل الفينولات البسيطة والكويريسيتين (Nerya et al., 2004) .

٦- إنزيم PPO والدفاع ضد الممرض النباتي

دور إنزيم PPO في الدفاع ضد مسببات الأمراض النباتية عرف منذ زمن بعيد بداية من البحوث التي تناولت هذا الإنزيم . لقد تم تعضيد هذه الفرضية بواسطة العديد من الدراسات المشتركة مثل التنظيم الفائق لإنزيم PPO في النباتات المصابة بالمرض (Mayer 2006) . الممرض الذي يحفز نشاط PPO مازالت محل اهتمام حيث تحدث في العديد من العائلات النباتية مثل وحيدة وثنائية الفلقات (Chen et al., 2000) . على نفس المنوال فإن الدراسات التي تناولت وصف ارتباطات المستويات العالية من PPO في الأصناف أو الخطوط النباتية مع المقاومة العالية للممرض مازالت تعضد حقيقة دور PPO في دفاع الممرض (Raj et al., 2006) . لقد حاولت مجموعات عديدة ربط التأثيرات الواقية لبكتيريا الريزوسفير مع تحفيز إنزيمات الدفاع بما فيها PPO مع خلط من النجاحات .

الدليل المباشر عن دور إنزيم PPO في تثبيط دخول أو نمو الممرض أتي من نباتات الطماطم المحورة وراثياً مع زيادة أو خفض مستويات PPO . عندما تتعرض النباتات لتحدي أو هجوم الممرض البكتيري بسيدوموناس سيرنجيا في الطماطم فإن النباتات ذات التعبير الفائق لإنزيم PPO أظهرت خفض في النمو البكتيري . هذه الدراسات هي الوحيدة التي تناولت الموضوع بشكل مباشر حتى الآن عن أهمية إنزيمات PPO في الدفاع ضد الممرض على النباتات . ما إذا كانت هذه الوظيفة تمتد لأنواع أخرى من الممرضات مثل الفطريات واجبة الدراسة أو درست فعلاً . في الحور فإن العدوى بالفطر M-medusac لا تحفز PPO ولكنها تمثل تعبيرها مع العديد من جينات دفاع آكلات النباتات (Miranda et al., 2002) .

البرهان على أن PPO يستطيع تثبيط الممرضات البكتيرية للنبات أدى إلى الاقتراح بأنه بالإضافة للتأثيرات على بعض آكلات النباتات فإن PPO مهم لتثبيط الميكروبات التي تصل للأوراق التالفة خلال أجزاء فم الحشرات المتغذية . هذه قد تكون بكتيريا انتهازية نفعية أو مرضية تنقل بواسطة حشرات خاصة ولو أنه لا يعرف إلا القليل عن أجزاء الفم

للكائنات الدقيقة الخاصة بالديدان وأجهزة الهضم . هذا معاكس لرؤية أن استجابات الدفاع للآفة والممرض حصرية . هذه الفرضية بنيت على دراسات مبكرة عن الطماطم والتي أوضحت أن حامض الساليسيليك وهو محفز قوى لدفاع الممرض والمقاومة الجهازية المكتسبة تثبط استجابة دفاع آكلات النباتات المحفزة بالجسمونات (Doares et al., 1999) النماذج الجارية لتأثير الدفاع تشير إلى مجموعة من الاستجابات المعقدة والمتداخلة تنظم بواسطة إشارات الجسمونات ، الإثيلين وحامض الساليسيليك مما يؤدي إلى العديد من المخرجات الممكنة . من الناحية الوظيفية فإن الحديث العبوري عضد بواسطة ملاحظة المقاومة المحفزة بأكل النباتات في نبات الأرابيدوبسيس ضد الممرضات الميكروبية بما فيها *P.syringae* (De Vos et al., 2006) . في الطماطم فإن الجين PPO-F يحفز خلال كلا الاستجابة للجرح والعدوى بالممرض *P.syringae* .

في الوقت الراهن لا توجد ميكانيكية واضحة عن التأثيرات الكبيرة المضادة للممرض في إنزيم PPO . لقد اقترح (Li and Steffens 2002) احتمالات عديدة تتضمن :

١- سمية عالية للكينونات التي تنشأ بواسطة PPO للممرضات والخلايا النباتية والتعجيل بموت الخلايا .

٢- الكلة وتقليل تيسر البروتينات الخلوية للممرض .

٣- الارتباط الكينونات مع البروتين أو فينولات أخرى مما يكون حاجز للممرضات في جدار الخلية .

٤- دورة اختزال الكينون تؤدي لتكوين فوق أكسيد الأيدروجين يد ٢١٢ وغيره من أنواع الأكسجين المتفاعلة .

بينما أنواع الأكسجين المتفاعلة معروف أهميتها كعوامل في التداخلات في الممرض النباتي وتأثير الدفاع وأن PPO تتضمن في تكون البوليمرات المشابهة للميلانين في مواضع التبقع الأسود في البطاطس فإن أي من هذه الفرضيات عن كيف أن PPO يؤثر على الممرضات لم تدرس جيداً .

٧- الاستنتاجات واتجاهات المستقبل

ولو أن اقتراب الهندسة الوراثية أدى إلى الحصول على أدلة عن كفاءة إنزيم PPO المحفز كوسيلة دفاع ضد بعض آكلات النباتات من رتبة حرشفية الأجنحة في بعض الحالات فإن ميكانيكيات الفعل ضد هذه الأعداء مازالت غير واضحة . التحليلات الأكثر تفصيلاً لكيمياء المعى الأوسط في العديد من أنواع الحشرات التي تتغذى على مستويات عالية من PPO في النباتات بدأت في إثارة هذه التساؤلات . بوجه خاص فإن درجة ارتباط الكينون مع البروتين والأحماض الأمينية في محتويات معدة آكلات الأوراق تحتاج

إلى الحدوث . استقراء دراسات التغذية سوف توازر بواسطة اختبار ليس مستويات PPO وأداء الحشرة فقط ولكن معدل الاستهلاك وجودة الغذاء من الناحيتين الغذائية والكيميائية ومن ثم يمكن الكشف عن التغذية التعويضية أو الطرد أو منع التغذية . بالإضافة إلى ذلك فإن معلوماتنا عن تأثيرات PPO سوف تستفيد من زيادة الاهتمام بالوسائط الداخلية للإنزيم PPO أكثر منها مع الاستقراء البسيط من تخصصية الوسيط التي لوحظت في الخارج . في قليل من الحالات تم تعريف الوسائط المحتملة وما زالت الأنشطة البيوكيميائية للكينونات الناتجة بواسطة PPO تعتمد على التركيب الخاص . الدراسات الحديثة أظهر كثير منها الأدوار الحقيقية لإنزيم PPO في الدفاع . هذا ولو أنه توجد أدوار أخرى لهذا الإنزيم وكمثال فإن الإنزيم PPO المضاد للحس في نباتات الطماطم يزيد من مقاومة الممرض وتحمل الجفاف وأن الإنزيمات مثل PPO تستطيع أن تعمل كإنزيمات تحلل مائي هيدروكسيليزيس في التمثيل الثانوي .

References

- Aydemir T, Akkanh G (2006) Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from celery root (*Apium graveolens* L.) and the investigation of the effects on the enzyme activity of some inhibitors. *Int J Food Sci Tech* 41:1090-1098
- Barbehenn RV, Burngarner SL, Roosen E, Martin MM (2001) Antioxidant defenses in caterpillars: role of the ascorbate recycling system in the midgut lumen. *J Insect Physiol* 47:349-357
- Bi JL, Murphy JB, Felton GW (1997) Antinutritive and oxidative components as mechanisms of induced resistance in cotton to *Helicoverpa zea*. *J Chem Ecol* 23:97-117
- Christopher ME, Miranda M, Major IT, Constabel CP (2004) Gene expression profiling of systemically wound-induced defenses in hybrid poplar. *Planta* 219:936-947
- Cipollini DF, Redman AM (1999) Age-dependent effects of jasmonate acid treatment and wind exposure on foliar oxidase activity and insect resistance in tomato. *J Chem Ecol* 25:271-281
- Constable CP, Ryan CA (1998) A survey of wound and methyl jasmonate-induced leaf polyphenol oxidase in crop plants. *Phytochemistry* 47:507-511
- Devoto A, Turner JG (2005) Jasmonate-regulated *Arabidopsis* stress signaling network. *Physiol Plant* 123:161-172

- Duckworth HW, Coleman JE (1970) Physicochemical and kinetic properties of mushroom tyrosinase. *J Biol Chem* 245:1613-1625
- Felton GW, Summers CB, Mueller AJ (1994) Oxidative responses in soybean foliage to herbivory by bean leaf beetle and three-cornered alfalfa hopper. *J Chem Ecol* 20:639-650
- Gandia-Herrero F, Jimenez-Atienzar M, Cabanes J, Garcia-Carmona F, Escribano J (2005) Evidence for a common regulation in the activation of a polyphenol oxidase by trypsin and sodium dodecyl sulfate. *Biochem J* 386:601-607
- Humphreys JM, Chapple C (2002) Rewriting the lignin roadmap. *Curr Opin Plant Biol* 5:224-229
- Hunt MD, Eannetta NT, Yu HF, Newman SM, Steffens JC (1993) cDNA cloning and expression of potato polyphenol oxidase. *Plant Mol Biol* 21:59-68
- Jiang Y, Miles PW (1993) Generation of H_2O_2 during enzymatic oxidation of catechin. *Phytochemistry* 33:29-34
- Jimenez M, Garcia-Carmona F (1999) Myricetin, an antioxidant flavonol, is a substrate of polyphenol oxidase. *J Sci Food Agric* 79:1993-2000
- Kanade SR, Paul B, Rao AGA, Gowda LR (2006) The conformational state of polyphenol oxidase from field bean (*Dolichos lablab*) upon SDS and acid-pH activation. *Biochem J* 395:551-562
- Kruzmane D, Jankevica L, Ievinsh G (2002) Effect of regurgitant from *Leptinotarsa decemlineata* on wound responses in *Solanum tuberosum* and *Phaseolus vulgaris*. *Physiol Plant* 115:577-584
- Li L, Steffens JC (2002) Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. *Plant* 215:239-247
- Major IT, Constabel CP (2006) Molecular analysis of poplar defense against herbivory. Comparison of wound and insect elicitor-induced gene expression. *New Phytol* 172:617-635
- Melo GA, Shimizu MM, Mazzafera P (2006) Polyphenoloxidase activity in coffee leaves and its role in resistance against coffee leaf miner and coffee leaf rust. *Phytochemistry* 67:277-285
- Nerya O, Musa R, Khatib S, Tamir S, Vaya J (2004) Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the effect of hydroxyl positions and numbers. *Phytochemistry* 65:1389-1395

- Parsons TJ, Bradshaw HD, Gordon MP (1989) Systemic accumulation of specific mRNAs in response to wounding in poplar trees. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:7895-7899
- Rathjen AH, Robinson SP (1992) Aberrant processing of polyphenol oxidase in a variegated grapevine mutant. *Plant Physiol* 99:1619-1625
- Redman AM, Cipollini DF, Schultz JC (2001) Fitness costs of jasmonate acid-induced defense in tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Oecologia* 126:380-385
- Ryan CA (2000) The systemic signaling pathway: differential activation of plant defensive genes. *Biochem Biophys Acta* 1477:112-121
- Shin R, Froderman T, Flurkey WH (1997) Isolation and characterization of a mung bean leaf polyphenol oxidase. *Phytochemistry* 45:15-21
- Stout MJ, Workman KV, Bostock RM, Duffey SS (1998) Specificity of induced resistance in the tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Oecologia* 113:74-81
- Thaler JS, Stout MJ, Karban R, Duffey SS (2001) Jasmonate-mediated induced plant resistance affects a community of herbivores. *Ecol Entomol* 26:312-324
- Thipyapong P, Steffens JC (1997) Tomato polyphenol oxidase – Different response of the polyphenol oxidase F promoter to injuries and wound signals. *Plant Physiol* 115:409-418
- Tscharntke , Thiessen S, Dolch R, Boland W (2001) Herbivory, induced resistance, and interplant signal transfer in *Alnus glutinosa*. *Biochem Syst Ecol* 29:1025-1047
- Van Gelder CWG, Flurkey WH, Wickers HJ (1997) Sequence and structural features of plant and fungal tyrosinases. *Phytochemistry* 45:1309-1323
- Walker JRL, McCallion RF (1980) Selective inhibition of ortho-diphenol and para-diphenol oxidases. *Phytochemistry* 19:373-377
- Yoruk R, Marshall MR (2003) Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. *J Food Biochem* 27:361-422

ثالثاً : فعل إنزيمات الدفاع النباتية في المعى الأوسط في الحشرة

Action of Plant Defensive Enzymes in the Insect Midgut. Hui Chen , Eliana Gonzales – Vigil and Gregg A. Howe

تغذية الحشرة نشط تعبير بروتينات دفاع النبات العائل والتي تحقق تأثيرات مباشرة على المهاجمين . بالإضافة إلى مثبطات البروتياز التي درست جيداً فإن ترسانة بروتين الدفاع النباتي تتضمن الإنزيمات التي تحدث خلل في مختلف نواحي فسيولوجية الهضم في الحشرات . في هذا المقام سوف نلخص مخرجات الدراسات الحديثة عن الصور المشابهة للأرجينيز والثريونين دي أمينيز (TD) الذي يهدم الأحماض الأمينية الضرورية الأرجينية والثريونين على التوالي في البيئة القلوية لمعدة حشرية الأجنحة . سوف نناقش كذلك بروتين التخزين الخضري (VSP2) والذي يكون فيه نشاط الفوسفاتيز مسئولاً عن التأثيرات الواضحة في إبادة الحشرات ثنائية وغمدية الأجنحة . من الملامح الشائعة لكل من VSP2 , TD ، الأرجينيز في التعبير المحفز بالجروح لها من خلال مسار تأثير الجسمونات . إنزيمات الدفاع التي تنظم بالجسمونات تنشأ من الإنزيمات المحفوظة التي وجدت قبلاً لهدم المواد المغذية الضرورية تمثيلاً خلال التطور العادي للنبات . استخدام الاقترابات التي تعتمد على البروتين Proteomics لتعريف البروتينات النباتية في القناة الهضمية للحشرات ملتهمة النباتات تسهل اكتشاف بروتينات نباتية صغيرة ذات نشاط ابادى على الحشرات .

G.A. Howe

DOE Plant Research Laboratory , Michigan State University , East Lansing , MI 48824 , USA .

e-mail : howeg@mus.edu

A. Schaller (ed.) , Induced Plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008 .

١- المقدمة

النمو المثالي لأكلات النباتات الحشرية تعتمد على قدرتها لاكتساب الأحماض الأمينية من البروتين الغذائي . على غرار الحيوانات الأخرى فإن الحشرات آكلة الأوراق تتطلب الأحماض الأمينية الضرورية الأرجينين والثريونية والأيزوليوسين والليسين والهستيدين والمثيونين والفينيل الانين والتربتوفان والفالين (Chang , 2004) . المحتوى القليل من البروتين في النسيج النباتي يملك تحدى كبير للحشرات التي تتطلب هذه المغذيات حيث أن البروتين يمثل كلا المواد المغذية الكبرى والعامل الغذائي المحدد الأكثر شيوعاً لنمو

الحشرة . الجزء الأكبر من الدليل أوضح أن العديد من مركبات الدفاع النباتية تتلف أداء آكل النباتات بواسطة تقييد تيسر الأحماض الأمينية والمغذيات الأخرى المشتقة من النباتات. الكثير من هذه الدراسات المرجعية التي تتعلق بنواتج التمثيل الثانوية مثل التانينات والراتنجات الفينولية التي تتداخل مع هضم البروتين الغذائي (Feeny , 1976) ذكرت .

النباتات الراقية كذلك تنتج أنواع من البروتينات التي تحدث خلل في اكتساب الحمض الأميني وغيرها من النواحي في فسيولوجي الهضم في الحشرات . مثبطات البروتينيز (PIS) وصفت بداية بواسطة Ryan ومعاونوه وهي تعتبر أفضل الأمثلة عن هذا النوع من الدفاع بعد التناول . بمجرد استهلاك نسيج النبات بواسطة آكل النبات ترتبط PIs وتثبط بروتينيز الهضم في الغشاء المبطن للمعدة . التأثير السالب لمثبطات PIs على نمو آكل النبات تنتج من استجابة التعويض بواسطة الحشرة للإنتاج الفائق لبروتينيز الهضم . هذه بدورها تستنزف حزمة الأحماض الأمينية الضرورية . بسبب أن المثبطات PIs ليست هادمة فإن قدرتها على إعاقة نمو الحشرة تعتمد على التراكم لتركيزات عالية نسبياً في الجهاز الهضمي . إنزيمات النبات لها مقدرة لإحداث تأثيرات دفاعية مع التركيزات المنخفضة كثيراً . لقد لاقى هذه الفكرة قليل من الاهتمام حتى وقت قريب . البحوث على الإنزيمات النباتية التي تعمل ولها دور بعد التناول في الدفاع ركزت أساساً على البولي فينول اكسيديز وغيرها من إنزيمات الأكسدة التي تحول بروتين الغذاء تكافوياً ومن ثم تتلف هضم الغذاء النباتي . إنزيمات الدفاع الأخرى تتضمن سيستين بروتينيز والمكونات التركيبية المستهدفة لجهاز الهضم في الحشرات . الدليل الجامع يوضح أن الإنزيمات النباتية تلعب دوراً حيوياً في الدفاع ضد الحشرات ويوسع رؤية أن نواتج التمثيل الثانوية هي العامل المحور الأكبر لانتخاب النبات العائل بواسطة الحشرات (Fraenkel , 1959).

البروتينات النباتية التي تلعب دوراً في الدفاع بعد التناول تخلق بالضبط استجابة للجروح وهجوم آكلات الأوراق . هذا التوجه المحوري للمقاومة المحفزة سجل منذ أكثر من ٣٥ عاماً مضت بواسطة العمل الرائد عن مثبطات PI's السيرين في البطاطس والبطاطم (Green and Ryan 1972) . التعبير المحفز لمثبطات PI's وغيره من البروتينات المرتبطة بالدفاع يتحكم في جزء كبير منها بواسطة مسار التأشير بالجسمونات (Walling , 2000) . البحوث الحديثة عن العمليات المؤشرة بالجسمونات توضح بأن الإنزيمات التي كان يعتقد في السابق أنها تشترك في التمثيل الأولى تلعب دوراً هاماً في الدفاع بعد التناول . في هذا المقام سنحاول تلخيص المخرجات الحديثة عن اثنين من الإنزيمات التي تنظم بالجسمونات وهما الأرجينيز والتريونين دي أمينيز (TD) واللذان عندهما المقدرة على هدم الأحماض الأمينية الضرورية في معدة حشرات حشرية

الأجنحة. كذلك سنناقش دور البروتين المخزنة في المجموع الخضرى والتي تنظم بالجسمونات ضد آكلات الأوراق الحشرية .

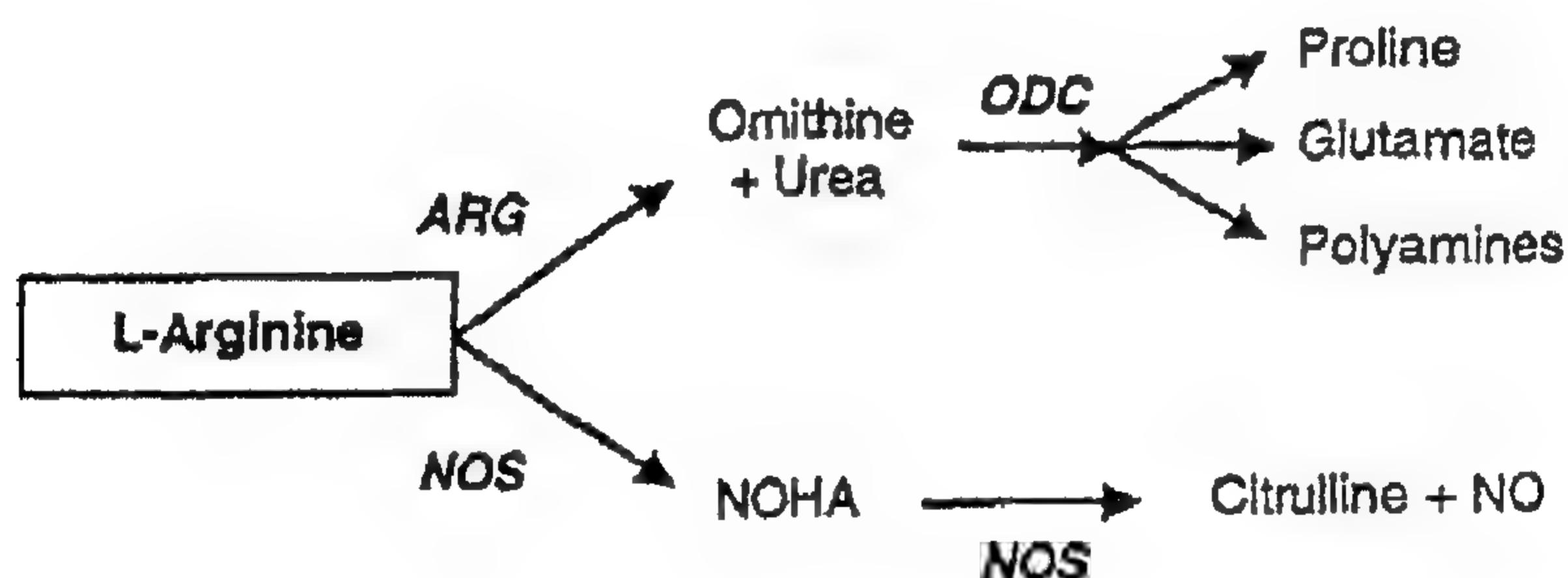
٢- الأرجينيز Arginase

الأرجينين L. arginine (Arg) واحد من أكثر الأحماض الأمينية انتشاراً وظيفياً فى الخلايا الحية . بالإضافة لكونها حجر الأساس لبناء البروتينات فإن Arg يعتبر البادىء لتخليق الأمينات العديدة والبرولين وكذلك جزئيات تأشير الخلايا جلوتامات ، جاما - أمينوببوتيريك أسيد وأكسيد النترىك (NO ، الشكل ٧-٤) اثنان من أكثر مسارات تمثيل Arg التى درست تضمنت الأرجينيز و NO سينسيز (NOS) . الأرجينيز (L.arginine amidino hydrolase أو EC3.5.3.1) عبارة عن ثنائى النواة منجنيز ميتالو إنزيم يحلل الأرجين مائياً إلى يوريا وأورنيثين والأخير بادىء لتخليق الحيوى للبولى أمين . فى النظم الحيوانية فإن التعبير الزائد للأرجينيز ينشط إنتاج البولى أمينات التى تحفز تكبير الخلية والنظام الجروح (Satriano 2004) على عكس التأثيرات المحفزة للنمو للبولى أمينات فإن التأثيرات الخلوية الثابتة Cytostatic للـ NO التى تنتج بواسطة الملتزمات المنشطة . التحول بين الأرجينيز وفروع NOS لتمثيل الأرجين يسيطر عليه بواسطة تأشير مختلف ومسارات تمثيل التى تنظم تيسر الأرجينين . بسبب أن الأرجينيز و NOS يتنافسان على الوسيط الشائع (الشكل ٧-٤) فإن زيادة تعبير الأرجينيز يمكن أن يثبط بشكل فعال مسار NOS . العديد من الممرضات الحيوانية كمثال تحفز تعبير الأرجينيز كوسائل لتجنب دفاعات العائل التى تعال بواسطة NO .

لا يعرف إلا القليل جداً عن الفعل الفسيولوجى لأرجينيز النبات . هناك مطلب مسبق قبل أن يثار هذا السؤال يتمثل فى التعريف الموثوق به عن جينات النبات التى تشفر الأرجينيز . بسبب أن التابع المتنبأ به لأرجينيز النبات أكثر تشابهاً للأجماتينيز عما هو الحال مع الأرجينيزيس القياسية من الفقاريات والفطريات والبكتريا وقد اقترح بعض الباحث أن جينات النبات التى تعمل كأرجينيز قد تشفر الأجمااتينيز أو أميدينوهدوليز المرتبط . الدراسات الحديثة على الأرجينيزيس من الطماطم المزروعة ساعدت فى حل هذا ARG1, ARG2 التوجه . جينوم الطماطم يحتوى على جينان أرجينيز يشار إليهما . لقد تنبأ بأن كلا الجينان يشفرا البروتينات ذات ٣٣٨ حمض (Chen et al., 2004) أمينى وهى متطابقة مع بعضها البعض بنسبة ٩٨% . دراسات التعبير غير المتجانس أظهرت أن كلا الإنزيمات ذات خصائص بيوكيميائية متشابهة بما فيها التخصص العالى الظاهرية للأرجينين حوالى ٣٠ ملليمول لكل مشابهات الإنزيمات Km . Arg للأرجينين للأرجينيزيس المقاومة من مختلف الأنسجة النباتية . أظهرت Km والتى تتوافق مع قيم بالرغم من تشابه تتابعهما مع الأجمااتينيز والتميز الوراثة ARG 1,2 هذه الدراسات أن

(Chen et al., 204) النباتي من الأرجينيزيس اللا نباتي فإنه عبارة عن إنزيمات أرجينيزيس حقيقة (al., 204).

لقد تحصل على رؤى إضافية عن وظيفة الأرجينيز النباتي بواسطة تحليل نظام التعبير الخاص للإنزيم أو الإنزيمات في النسيج . جينات ARG1 , ARG2 كمثال تعبر عن مستوياتها الأعلى في أنسجة التكاثر . هذه الملاحظة تتفق مع الدراسات السابقة التي توضح أن مبايض الطماطم والثمار غير الناضجة تحتوى على مستويات عالية نسبياً من نشاط الأرجينيز (Alabadi et al., 1996) . البحوث على فول الصويا أظهرت أن الأرجينيز قد يشترك في تحريك الأرجينين خلال مرحلة البادرات المبكرة . الإشارة الأولى بأن الأرجينيز له دور في دفاع النبات تأتي من الملاحظة بأن تعبير الجين ARG2 في الطماطم (وليس ARG1) يحفز بشكل كبير في الأنسجة الخضرية استجابة للجروح الميكانيكية والمعاملة بالمثل جسمونات التعبير المحفز للجين ARG2 كان مصحوباً بالزيادة في نشاط الأرجينيز ويمحى في الطفرة غير الحساسة لحمض الجسمونيك 1 (Jai) (1 التي ترتد في مسار تأثير الجسمونات (Li et al., 2004) . غياب التعبير للجين ARG2 في نباتات Jai 1 أدت إلى الاقتراح بأن هذه الصورة الأيزوليست ضرورية للنمو والتطور العادي للنباتات العادية .



شكل (٧-٤) : تمثيل الأرجينين في النباتات الراقية . الأرجينين يعمل كوسيط لكلا الأرجينيز (ARG) ونترريك أكسيد سينسيز (NOS) . NOS تساعد على تخليق أكسيد النترريك (NO) بواسطة خطوتين تفاعل متضمنة وسيط ن - هيدروكسي - أرجينين (NOHA) . تمثيل الأرجينين عبر أرجينيز - أورنيثين ديكربوكسيليز (ODC) وهي المسارات التي تكون البروتين والجلوتامات والبولي أمينات البسيطة . الأرجينين تمثل كذلك بواسطة أرجينين ديكربوكسيليز إلى الأجماتين (غير موضحة بالشكل) والتي تستخدم كذلك كبادئ لتخليق البولى أمين .

من الصفات غير العادية لأرجينيز النبات ما يتمثل في قدرته على تمثيل الأرجينين عند درجة حموضة عالية . لقد وجد أن درجة pH الملائمة لجين ARG2 في الطماطم تساوي حوالي 9,7 مع قليل أو عدم وجود نشاط على درجة الحموضة 7 (الشكل ٧-٥). اعتماد نشاط ARG2 على درجة الحموضة العالية مما أدى إلى بروز الفكرة أن الإنزيم بعد تراكم من جراء التحفيز بالجروح في أوراق الطماطم تعمل في الوسط القلوي للمعدة في حشرات حرشفية الأجنحة وتتغذى على أوراق الطماطم مع استنزاف المتاح من الأرجينين للامتصاص في الأمعاء والأرجينيز قد يقلل من الجودة الغذائية لغذاء النبات . هذه الفرضية تتماشى مع اقتراح (Broadway and Guffey 1988) بأن خفض تيسر الأحماض الأمينية الأساسية (مثل الأرجينين والليسين) يزيد من سمية المثبط PI's . هناك عديد من الأدلة التي تعضد دور الأرجينيز في الدفاع ما بعد التناول بداية فإن Jai 1 الطفرية النبات التي تفشل في التعبير عن جين ARG2 تشترك في الدفاع ضد هجوم آكلات النباتات . ثانياً فإن محتوى معدة يرقات الديدان ذات القرون (ماندوكاسيكا) التي ربيت على الأوراق من نباتات الطماطم المحفزة تحتوي مستويات عالية من نشاط الجين ARG2 . في النهاية فإن نشاط الأرجينيز الزيادة في مستخلصات المعدة ترتبط بالمستويات القليلة من الأرجينين الحر في نفس المستخلص . (Chen et al., 2005) . هذه النتائج توضح أن ARG2 المنظم بواسطة JA في أوراق الطماطم يكون نشط في M.sexte الجهاز الهضمي حيث يحدث هدم للأرجينين .

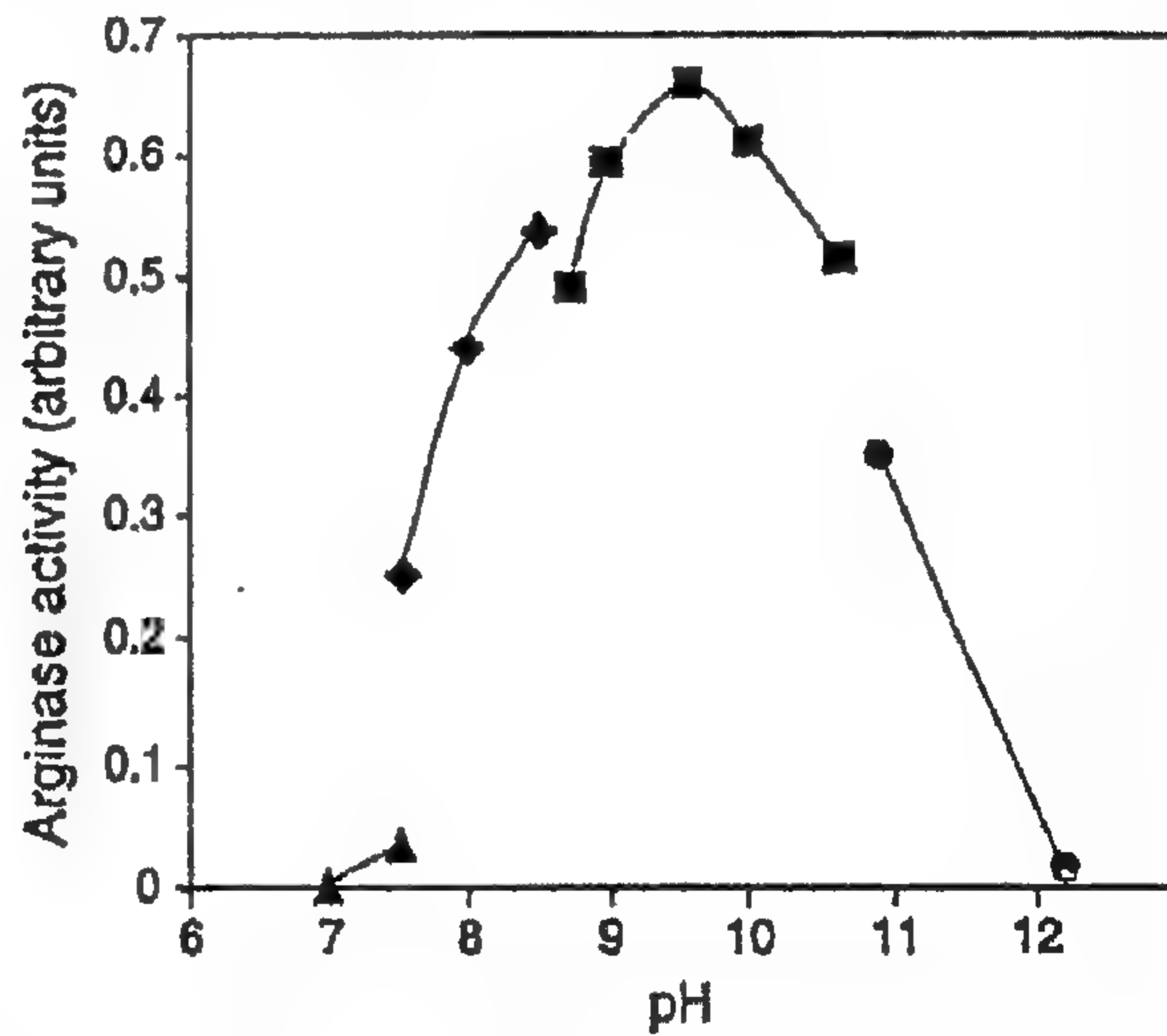
لقد استخدمت الهندسة الوراثية لتقدير ما إذا كان زيادة تعبير أرجينيز الأوراق كافياً لخفض أداء الديدان . نبات الطماطم المتحولة وراثياً التي يعبر فيها بشكل فائق جين ARG2 , DNA تحت سيطرة محفز فيروس موزايك القرنيبيط 355 (Ca MV) تم خلقها بواسطة التحول المعال بواسطة الأروبواكتيريوم . المستوى التكويني لنشاط الأرجينيز في الأوراق السليمة لخطوط الانتخاب ARG2 : 355 زاد بشكل بعيد عما هو الحال مع الأوراق البرية المضارة والتالفة بالجروح . النشاط العالي للأرجينيز في هذه النباتات لا تظهر في طرز فينولوجية مورفولوجية أو في التكاثر ولا تغير بشكل كبير مستوى الأرجينين الحر في الأوراق ARG2 : 355 . لقد أجريت تجارب تغذية مع خطوط مستقلة ARG2 : 355 وأظهرت أن متوسط وزن اليرقات النامية على النباتات المهندسة وراثياً أقل بشكل كبير عما هو الحال مع متوسط الوزن لليرقات التي ربيت على النباتات البرية . أظهرت هذه التحاليل الحيوية كذلك أن اليرقات تستهلك أوراق أكثر من النباتات البرية مقارنة من نباتات ARG2 : 355 . نشاط الأرجينيز في مستخلصات المعدة من اليرقات المرباة على النباتات المهندسة وراثياً ARG2 : 355 كان أكبر كثيراً عما هو الحال مع اليرقات التي ربيت على النوع البري وكان هذا النشاط مرتبطاً

بالمستويات المنخفضة من أرجينين المعدة . لذلك فإن تناول أرجينيز الأوراق بواسطة يرقات *M.sexte* أدت إلى استنزاف أرجينين المعدة وتقليل نمو اليرقات .

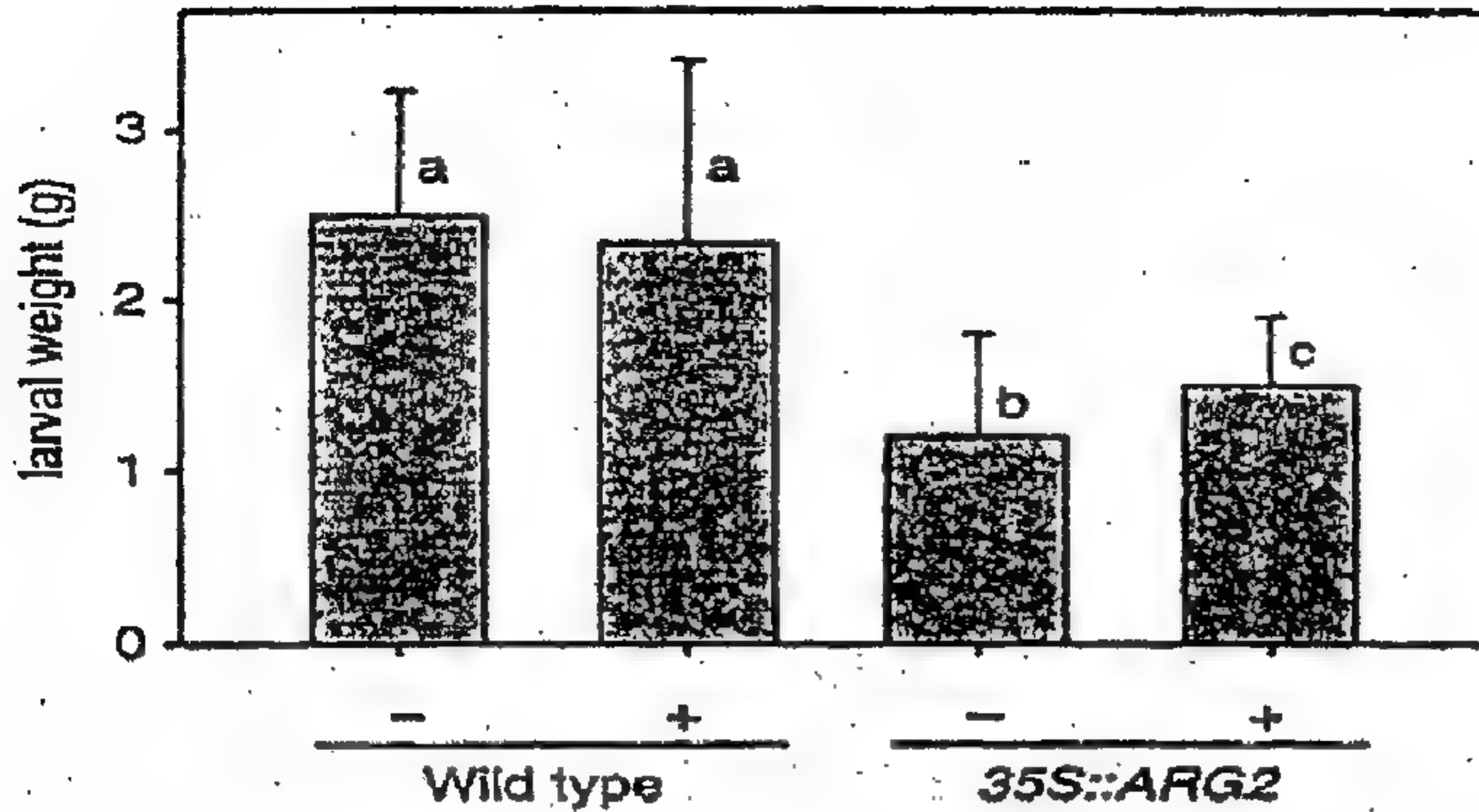
لاختبار فرضية أن خفض نمو الحشرة *M.sexta* على نباتات ARG2 : 355 ما هي إلا تتابع مباشر لنقص الأرجينين في الغذاء أجريت تجارب تغذية مع النباتات التي تم رشها بمحلول 1 ملليمول من الأرجينين (الشكل ٦-٧) . هذه المعاملة لم تؤثر على أداء اليرقات على النباتات البرية مما أدى إلى الاقتراح بأن الأرجينين الحر ليس هو العامل المحددة لنمو الحشرة على هذا العائل . هذا ولو أنه لوحظ حدوث تحسن ملحوظ في نمو اليرقات على النباتات المتحولة ARG2 : 355 بالمقارنة بنفس الطرز الوراثي المعاملة بالمقارنة الخادعة . مقدرة الأرجينين الخارجي على تحرير خفض نمو يرقات *M.sexta* على النباتات المتحولة وراثياً ARG2 : 355 تعضد فرضية أن الأرجينين عامل غذائي

محدد لنمو الحشرة على هذا الخط من النباتات . هذه النتائج متوافقة كذلك مع ملاحظة أن تيسر الأرجينين المختزل في الغذاء يزيد من سمية مثبطات PI's . بسبب أن اليرقة تربي على النباتات المتحولة وراثياً بإضافة الأرجينين يكون وزنها أقل بشكل كبير عن الحشرات النامية على النباتات البرية (شكل ٦-٧) يكون في الإمكان أن الدور الدفاعي للأرجينيز يتضمن ميكانيكيات بالإضافة إلى استنزاف الأرجينين .

pH optimum of tomato arginase2. A hexahistidine-tagged derivative of tomato arginase2 was expressed in *E. coli* and purified by nickel-affinity chromatography (Chen et al. 2004). The recombinant enzyme was assayed for arginase activity in buffer systems (K-PO₄, triangles; Tris, diamonds; glycine, squares; K-PO₄, circles) adjusted to the indicated pH



شكل (٥-٧) : درجة الحموضة المناسبة للأرجينيز C- في الطماطم . A- هي مشتق هكسahيستيدين المعمل في أرجينيز C- في الطماطم حيث تم التعبير عنه في بكتريا *E.Coli* والمنقى بواسطة الكروماتوجرافى مع النيكل . الإنزيم المعاد اندماجه تم تحليله للكشف عن نشاط الأرجينيز في نظم المحاليل المنظمة (K-po4 - المثلاثات ، Tris ، دياموند ، جليسين - المربعات ، Kpo4 - الدوائر) مضبوطة عند درجة الحموضة pH الموضحة .



شكل (٦-٧) : الأرجينين الخارجى يحرر جزئياً النمو المنخفض ليرقات *M.sexta* المرباة على النباتات المتحولة وراثياً ARG2 : 355 . النباتات التى أظهرت طرز جينى تم رشها بالأرجينين بتركيز ١٠ ملليمول (+) أو بالمقارنة الخادعة (-) قبل الإصابة باليرقات حديثة الفقس . تم تحديد وزن اليرقات بعد ١٠ أيام من بدء التغذية . أظهرت النتائج متوسط والخطأ التجريبى لعدد ٢٣ يرقة على الأقل لكل طرز وراثى عائل . الحروف مع الانخفاض تشير إلى اختلافات معنوية على $P < 0.05$.

٣- ثريونين دى أمينيز (Threonine deaminase (TD)

ثريونين دى أمينيز (Ec 4.2.1.16) يعرف كذلك بالثريونين ديهيدراتيز أو ثريونين أمونيا - ليز وهو إنزيم يعتمد على بيريدوكسال فوسفات الذى يساعد فى فقد الماء للمركب L.theronine إلى الفا - كيتوبيوتيرات والأمونيا . هذا ولو أن إنزيم TD يستطيع استخدام L - سيرين كوسيط لإنتاج البيروفات والأمونيا . الثريونين يعتبر بوجه عام الوسيط المفضل . العديد من الكائنات الدقيقة تملك صور متميزة تخليقية وهدمية من إنزيم (TD) .

إنزيم التخليق يساعد خطوة تخليق Ile ويرجع بعد ذلك لينشط بواسطة Ile . إنزيم TD's المخلق حيويًا من البكتيريا درس باستفاضة كنموذج لتنشيط Allosteric (Umbarger , 1956) . إنزيمات TD's الهادمة تشترك فى الهدم اللا هوائى للثريونين إلى بروبيونات وهى غير حساسة إلى Ile النباتات الراقية تملك نوع من إنزيم TD المخلق حيويًا حيث أن تركيبه ووظيفته وتنظيمه بواسطة Ile مشابه جداً لإنزيم TD's البكتيرية (Mourad and King 1995) . لقد تأكد هذا الاستنتاج بواسطة الكلونة الجزيئية وتحليل الجينات التى تشفر TD من النباتات العديدة بما فيها البطاطس والطماطم

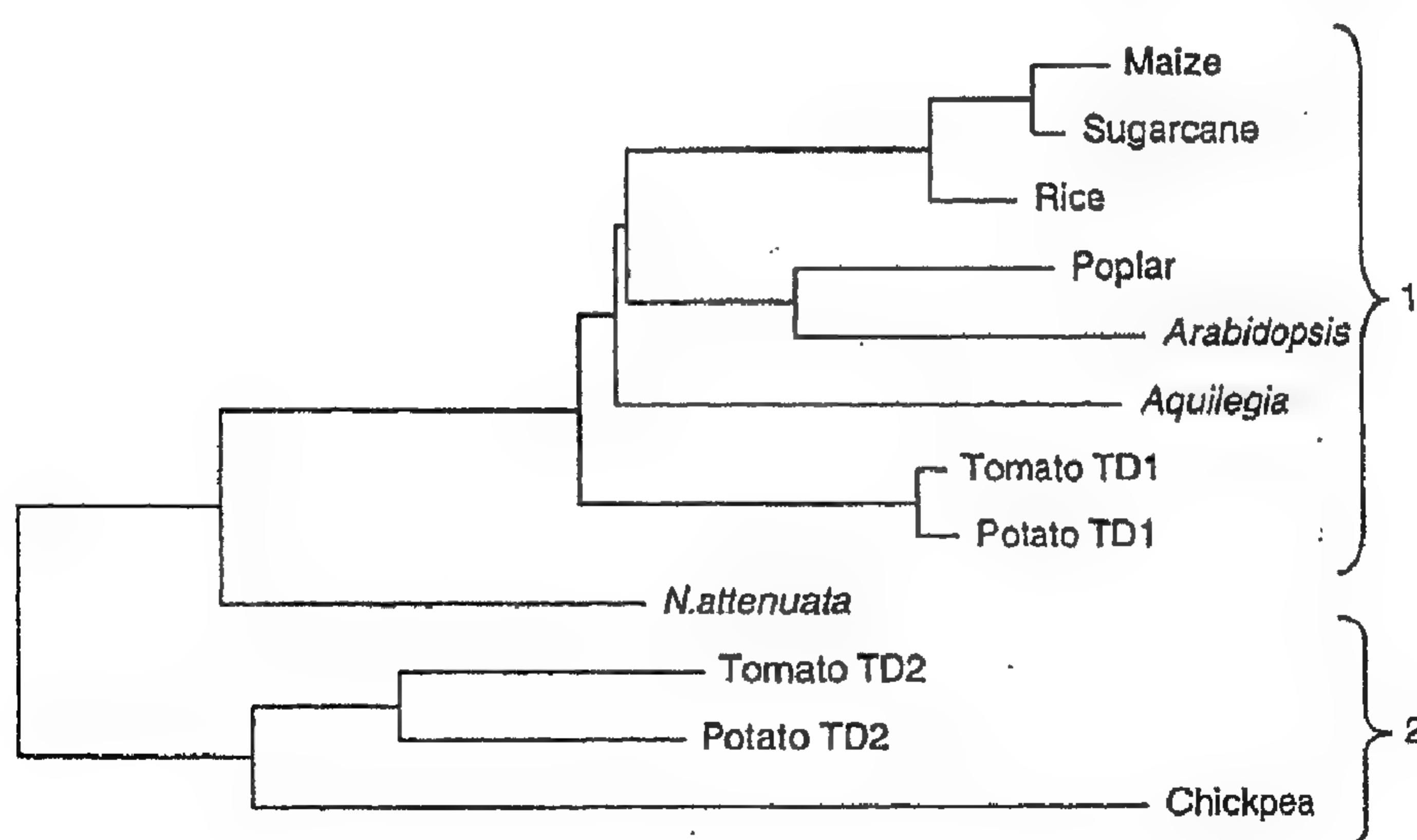
والبسلة ونباتات أرابيدوبسيس والدخان المتوطن . الأهمية الفسيولوجية لإنزيم TD في نمو وتطور النباتات تأكدت من دراسات على الطفرات التي تفتقر إلى TD من *N. plumbaginifolia* و *N. attenuate*. ولو أن نشاط TD غير الحساس إلى Ile تم وصفه في أوراق الطماطم الحساسة والأنسجة النباتية الأخرى إلا أن الجينات التي تشفر إنزيم الهدم لم تعرف بعد في النباتات .

الدليل الأول بأن إنزيم TD المخلق حيويًا قد يكون له دور في الدفاع تحصل عليه من دراسات (Hildmann et al., 1992) والتي أوضحت أن الجين TD في البطاطس يعبر عنه بشدة في الاستجابة للجروح الميكانيكية أو المعاملة بالهورمونات النباتية حامض الأبسيسيك (ABA) والمثيل جسمونات (MeJA) أظهرت الدراسات المتتابة أن التعبير بإنزيم TD في أوراق الطماطم والدخان تحفز كذلك بواسطة مسار تأثير الجسمونات استجابة للجروح وهجوم آكلات النباتات . في أنواع العائلة الباذنجانية يعبر عن إنزيم TD التكويني إلى مستويات عالية في أعضاء التكاثر (Kang and Baldwin 2006) . في الحقيقة فإن TD هو البروتين الأكثر وفرة في أزهار الطماطم (Samach et al., 1991) . النظام الشامل لتعبير TD في الأنسجة الخضرية والتكاثر متشابه جداً مع مثبطات PI's وغيره من البروتينات المحفزة بالجسمونات التي تلعب دوراً في الدفاع ضد الحشرات . ظاهرة تعبير إنزيم TD المحفز بالإجهاد سجلت مع نباتات بخلاف العائلة الباذنجانية .

أوضحت الدراسات الحديثة في معامل كاتب هذا الجزء أن الطماطم تملك جينان لإنزيم TD (يشار إليهما SITD1 , SITD2) التي لها أدواراً متميزة في نمو وتطور النباتات . TD1 يعبر عنه تكوينياً في جميع الأنسجة بينما TD2 يعتمد تعبيره على مسار تأثير الجسمونات السليم (Li et al., 2004) تتابعات عناقيد TD النباتية تحدث في مجموعتين كبيرتين للوراثية النباتية (الشكل ٧-٧) . تتابع SITD2 مشابه كثيراً لتتابعات TD3 من الأرز والحبوب والأرابيدوبسيس عما هو الحال مع SITD2 . حقيقة أن الأرابيدوبسيس والطرز أن كل منها يملك جين TD منفرد يعضد فرضية أن SITD1 يلعب دوراً أساسياً في التخليق الحيوي Ile . الصور المشابهة المحفزة بالجسمونات من الطماطم (SITD2) والبطاطس (SITD2) تمثل تحت مجموعة مميزة من البروتينات التي تشابه تتابع TD من البسلة . نقص تعبير TD الواضح في طفرة Jail النباتية مع حقيقة أن هذه الطفرة لا تظهر أعراض (مثل النمو القزمي) لنقص Ile موضحاً أن TD1 يستطيع إنتاج حزم Ile والتي تستخدم للنمو والتطور الطبيعي في غياب TD2 .

الدليل المباشر لفكرة أن TD له دور في الدفاع ضد الحشرات أتى من ملاحظة أن تراكم TD2 في قرص الغذاء وبراز يرقات *M. sexta* الآتى من أوراق الطماطم . النشاط

العالي للجين TD2 في المعدة يرتبط بالمستويات المنخفضة عن الثريونين Thr . مستوى أمونيا المعدة والتي تنتج من فقد الأمين من Thr المساعدة بواسطة إنزيم TD ووجد مرتبط كذلك مع نشاط TD2 . الدراسة الحديثة بواسطة (Kang et al. 2006) أعطت دليل اضافي عن دور TD في الدفاع ضد الحشرات . أظهر هؤلاء الباحث أن نباتات الدخان التي تعاني من نقص TD مشكوك في مقاومتها ليرقات M.sexta . إمداد أوراق نباتات الدخان بالثريونين يؤدي إلى زيادة أداء اليرقات ما أدى إلى الاقتراح بأن تيسر الثريونين في الغذاء اليرقي يعتبر عامل محدد لنمو اليرقات . على عكس الطماطم والبطاطس فإن الدخان به جين TD منفرد (Kang et al., 2006) . إخماد هذا الجين يؤدي إلى نقص في Ile ويقزم نمو النبات . مستويات Ile المنخفضة في الخطوط الخاملة تسبب نقص في إنتاج جاسمونويل Ile (JA - Ile) وهي تمثل إشارة هامة في استجابات الدفاع المحفزة لمسببات الأمراض والحشرات . لذلك فإن الدور الدفاعي لإنزيمات TDs في نباتات الدخان ترجع إلى مشاركة في تخليق JA - Ile ووظيفته في الدفاع بعد التناول . الدور المزدوج لإنزيم TD الدخان قد يفسر موضع البروتين الغامض في شجرة إنزيم TD الوراثة النباتية (الشكل ٧-٧) مما أدى إلى الاقتراح بأن نشوء هذه الصورة كإنزيم مضاد للتغذية يجابه تحدى بواسطة وظيفته الضرورية في التخليق الحيوي Ile . TD2 الطماطم يفترض عدم تعرضه لهذا التحدى بسبب وجود TD1 . لذلك فإن TD2 قد يكون عالي التخصص كإنزيم دفاعي نشط في المعدة .



شكل (٧-٧) : نشوء إنزيم ثريونين أميني TD2 . لقد أنشأت شجرة بدون جذور متصلة الجوار مع تتابع الحمض الأميني المسئول عليه لإنزيم TD2 من النباتات الموضحة . الأعداد الموضوعة كما يلي :

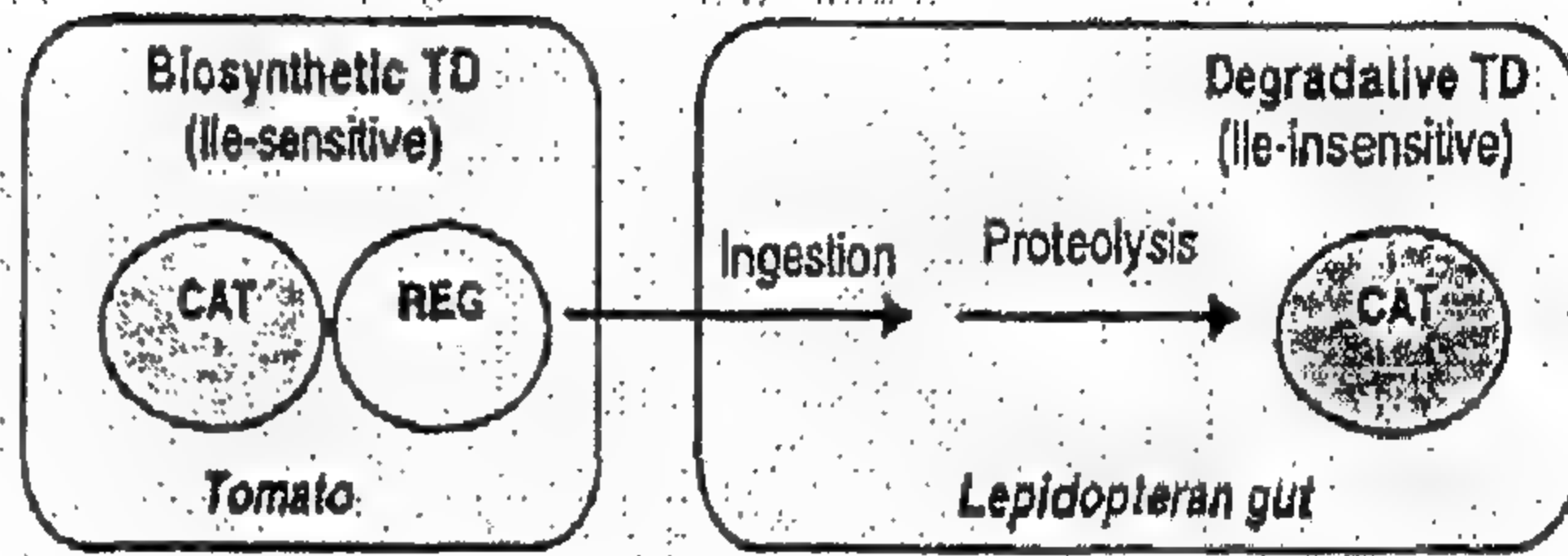
Accession numbers : Maize (CO446428) , Sugarcane (CA208490) , Rice (NP 001051069) , Poplar (estext – fgenesh4- pg. C-280257) , Arabidopsis (NP-187616) Aquilegia (DT735861) , Tomato TDI (ABK20067) , Potato TD1 (BI436101) , N.attenuata (AAX22214), Chickpea (Q39469) , Tomato TD2 (P25306) , and Potato TD2 (X67846) , The sequences cluster into two subgroups designated "1" and "2" Because of its ambiguous posit in the tree , N.attenuata TD was not assigned to either group .

إنزيمات TD's المخلقة حيويًا تحتوي على نظام محفز ذات نتروجينية طرفي ونظام تنظيمي يحتوي على كربون طرفية . ارتباط Ile للأساس التنظيمي يؤدي إلى وضع انتقالى اللوستراني يعمل على تثبيط النشاط المحفز بشدة . المستوى العالي من نشاط TD2 فى المعى الأوسط لحشرة *M.sexta* المرباة على الطماطم أدت إلى الاقتراح بأن صفات التنظيم الخاصة بالإنزيم بطريقة أدت إلى تحقيق عدم الحساسية إلى Ile . تحليل الإنزيم فى الخارج In vitro أظهر أن TD2 المعزولة من المجموع الخضرى للطماطم تم تثبيطها بشدة بواسطة Ile بينما نشاط TD2 فى المعى الأوسط ومستخلص البراز كان غير حساس إلى Ile . باستخدام التحليل بالأجهزة المتقدمة LC – MS / MS على مستخلصات المعدة تم الكشف عن عدد هائل من الببتيدات المقابلة للأساس التحفيزى . هذا ولو أنه حدث فشل فى الكشف عن الببتيدات من الأساس التنظيمى . لذلك تم الاقتراح بأن الأساس التنظيمى لإنزيم TD2 يتمثل فى الكسر من جراء التحلل المائى للبروتينات من الأساس التحفيزى الذى يلى تناول الأوراق بواسطة الحشرة . الإنزيم المقطوع الناتج يمكن أن يهدم الثريونين بشكل فعال وهو مطلب غذائى للحشرات الملتزمة للنباتات فى معدة الحشرة الغنية فى Ile .

لإثبات أن عملية التحلل المائى للبروتينات تشترك فى إنتاج TD2 ذات الشكل غير الحساس Ile يكون من الضرورى وضع علاقة المنتج – البادئ بين الصورة 55 ~ KDa للبروتين الذى يتراكم فى أوراق الطماطم (Sanach et al., 1995) والصورة المجيزة افتراضياً للإنزيم . أظهرت الدراسات المناعية أن الأجسام المضادة التى تضاد TD2 تتفاعل عبورياً مع البروتين 55 KDa ~ فى أوراق الطماطم التالفة من هجوم الحشرات . على العكس فإن البروتين منخفض الوزن الجزيئى 40 KDa ~ الذى يشار إليه PTD2 هو الصورة السائدة للبروتين فى مضغة الغذاء والبراز . أظهرت هذه النتائج أن PTD2 ينتج بواسطة عملية تحلل للبروتين فى TD2 بعد تناول أوراق الطماطم بواسطة *M.sexta* . الغياب تقريباً الخاص TD2 غير المجهز فى مستخلصات المعدة أدى إلى الاقتراح بأن تفاعل التجهيز يحدث بسرعة فى نسيج الورقة المهروس والمتناول . لقد وجد أن PTD2 هو الصورة السائدة للإنزيم فى براز حشرة *Trichoplusiani* (نطاط الكرب) المرباة على الطماطم وهى حشرة عامة . تمشياً مع هذه النتيجة فإن براز حشرة

T.ni يحتوى على TD نشط وهو غير حساس للتثبيط بواسطة Ile . لذلك فإن تناول الأوراق بواسطة الحشرات آكلات الأوراق الخاصة والعامة تؤدي إلى إزالة التحلل البروتيني للأساس التنظيمي لإنزيم TD2 مما يؤدي إلى إنزيم قادر على هدم الثريونين كيد أن يثبط خلال الرجوع بواسطة Ile . لقد اقترح نموذج لهذا الوضع يشير إلى مآل إنزيم TD2 في الطماطم في معدة حشرية الأجنحة (الشكل ٧-٨) . تركيب TD2 أدى إلى الاقتراح بأن تفاعل التجهيز يتضمن إنزيم بروتينز داخلي في النبات أو الحشرة والذي يتكسر منطقة الارتباط بين الأسس التنظيمية والمحفزة . مطلوب دراسات إضافية لاختبار هذه الفرضية .

Working model for proteolytic activation of tomato TD2 in the response to herbivore attack. CAT: catalytic domain; REG: regulatory domain



شكل (٧-٨) : نموذج التنشيط بالتحلل البروتيني لإنزيم TD2 في الطماطم استجابة لهجوم أكل النباتات . CAT تمثل الأساس التحفيزي ، REG تمثل الأساس التنظيمي .

توجد خصائص أو صفات عديدة لإنزيم TD2 افترض قبلها أنها تسهل دورها فيما بعد التناول للدفاع . بداية فإن TD2 غير حساس للتثبيط الرجعي بواسطة Ile . ثانياً فإن PTD2 عالية المقاومة للبروتيزيس الهاضمة في الحشرات كما تحدد بواسطة المستوى العالي التي يتم إخراج الإنزيم النشط في البراز . ثالثاً فإن PTD2 يكون نشط في مدى درجة حموضة قلبية تتوافق مع معدة حشرات حشرية الأجنحة حيث لم تلاحظ أية أنشطة أو كانت قليلة على درجات حموضة تحت (٦) . رابعاً فإن PTD2 تكون نشطة عند درجات حرارة أعلى من ٦٠°م . هذا النبات الحراري يوضح أن الإنزيم سيكون فعالاً عند درجات حرارة الجسم المرتفعة والتي في حالة ديدان M.sexata تحت الظروف العادية تزيد عن ٣٥°م (Casay , 1976) . في النهاية فإن نظام تعبير إنزيم TD2 يتوافق مع الوظيفة الخاصة بالدفاع ضد آكلات الأوراق . TD2 يحفز تنسيقاً مع جينات الدفاع الأخرى استجابة للجروح والمعاملة بالجسمونات . المستوى العالي لتعبير إنزيم TD2 في أنسجة التكاثر في الطماطم مشابه للعديد من بروتينات الدفاع المنظمة بالجسمونات متضمنة مثبطات PI's والأرجينيز LAP-A و AtVsp2 (Chao et al., 1999) . هذه

الملاحظات تعضد فكرة أن تراكم TD في الأنسجة الخاصة بالإحياء تعكس الميكانيكية التي تحمي تراكيب التكاثر من آكلات الأوراق .

التنوع الوظيفي لـ SITD1 , SITD2 توضح أن الإنزيم المشابه للدفاع الأخير قد ينشأ من TD المحفوظ . من العقلانية افتراض كمثال أن TD2 تنشأ من تضاعف الجين وأن الضغط الانتخابي الذي يحدث بواسطة آكلات الأوراق تؤدي إلى نشوء TD2 . من الملامح الهامة المكتسبة بواسطة TD2 وغيرها من بروتينات الدفاع ما بعد التناول خلال النشوء تنظم بواسطة مسار التأثير بالجسمونات . من غير الواضح ما إذا كان TD2 يخلق صفات بيوكيميائية أو تركيبية جديدة تساعد قدرته على هدم الثريونين في معدة الحشرة . البحوث المستقبلية تستهدف مقارنة ثبات ونشاط وتركيب TD1 , TD2 تقدم رؤية إضافية في هذا التساؤل .

٤ - بروتينات التخزين الخضرية Vegetative storage proteins

بروتينات التخزين الخضرية (VSP's) تشمل مجموعة متنوعة من البروتينات التي تتراكم لمستويات عالية في الأعضاء الخضرية المختلفة للنبات ديناميكية تراكم VSP والهدم في الأنسجة النباتية يتم السيطرة عليها بواسطة إشارات التطور والبيئة (Berger et al., 1995) . بروتينات التخزين الخضرية VSPs الأكثر توصيفاً والتي عرفت في البداية هي VSPs , VSP B (Sta.swick 1994) . النظرية الأكثر شيوعاً تتمثل في أن وظيفة VSPs المتراكمة كمصدر للأحماض الأمينية وغيرها من المغذيات الأخرى لتطور البذور . هذا ولو أن النتائج من تجارب الهندسة الوراثية في نبات فول الصويا التي تعاني من نقص VSP توضح أن VSPs تساهم قليلاً في إنتاجية النبات . لذلك فإن الأدوار البديلة للـ VSPs في تخزين الغذاء أو غيرها من نواحي فسيولوجية النبات يجب أن تؤخذ في الاعتبار .

من النواحي الممكنة لفهم وظيفة VSP دراسة النشاط الإنزيمي لهذه البروتينات . VSP's لفول الصويا ونباتات الأرابيدوبسيس تظهر نشاط الفوسفاتيز (Leelapon et al 2004) ., بينما الباتاتين من درنات البطاطس هو ليبيد أسيل هيدرولايز . VSP's السائد في القلف من شجر التوت عبارة عن الليكينات شبيه الجاكالين . VSP's من البطاطا والبرسيم وجد أنها تعمل كمثبطات للترسين والكتينيزيس على التوالي (Yeh et al., 1997) . هذه الملاحظات زادت من إمكانية أن VSP's عبارة عن إنزيمات التي تكتسب بالتعبية وظيفة تخزين البروتين . بالبدائل فإن وظيفة VSPs قد ترتبط في النهاية بالنشاط الإنزيمي . في هذا المقام تجدر ملاحظة أن العديد من الأنشطة التي ذكرت أعلاه ترتبط تقليدياً بعمليات الدفاع في النباتات . من الأدلة الإضافية التي تعضد دور VSP's في دفاع

النبات تأتت من الحقيقة المؤكدة بأن تعبير VSP فى الأنسجة الخضرية يحفز بشدة بواسطة الجروح وهجوم آكلات النباتات والمعاملة بالجسمونات فى الأنسجة الخضرية والتكاثر . غياب تعبير VSP فى الأنسجة الخضرية والتكاثر فى طفرة الارابيدوموبسيس كويل أظهرت أن تعبير هذا البروتين يسيطر عليه بإحكام بواسطة مسار تأثير الجسمونات (Benedetf et al., 1995) .

الاختراق الكبير لفهمنا عن وظيفة VSP أتت من التحليل الحديث لبروتينات VSP2 فى الأرابيدوموبسيس و VSP2 المنقى وعندما تم غرسه فى البيئات المغذية الصناعية أحدث نشاط مؤثر مضاد للحشرات من رتبة ثنائية وغمدية الأجنحة التى فيها تجويف معدة حامضى . التأثير المثبط للنمو لبروتينات VSP2 على هذه الحشرات كان أكبر عشر مرات على الأقل عن البروتينات الأخرى المضادة للحشرات ومنها سيسثاين والليكتين . الطفرية الموجهة الموقع أظهرت بالتأكيد أن نشاط الفوسفاتيز لبروتينات VSP2 ضرورى لإحداث التأثيرات الإبادية للبروتينات على الحشرات . هذه النتائج تقدم دليل عن أن VSP2 هو بروتين مضاد للحشرات فإن نشاط بروتين الفوسفاتيز محدد بشكل حرج لتحقيق هذه الوظيفة . كيفية إحداث الفعل لبروتين VSP2 مازالت فى حاجة للبحث والتقدير . إذا أخذ فى الاعتبار أهمية الفوسفور الغذائى لنمو الديدان التى تأكل الأوراق يكون من المتصور أن التأثيرات الدفاعية لبروتينات VSP2 قد يرجع إلى مقدرة أو قابلية الإنزيم لإحداث تشويش انزيم الفوسفات فى تجويف المعدة .

References

- Andrews DL, Beames B, Summers MD, Park WD (1988) Characterization of the lipid acyl hydrolase activity of the major potato (*Solanum tuberosum*) tuber protein, patatin , by cloning and abundant expression in a baculovirus vector. *Biochem J* 252:199-206
- Berenbaum MR (1995) Turnabout is fair play – Secondary roles for primary compounds. *J Chem Ecol* 21:925-940
- Broadway RM, Duffey SS (1988) The effect of plant protein quality on insect digestive physiology and the toxicity of plant proteinase inhibitors. *J Insect Physiol* 34:1111-1117
- Casey TM (1976) Activity patterns, body temperature and thermal ecology in two desert caterpillars (*Lepidoptera: Sphingidae*). *Ecology* 57:485-497
- Chen H, McCaig BC, Melotto M, He SY, Howe GA (2004) Regulation of plant arginase by wounding, jasmonate, and the phytotoxin coronatine. *J Biol Chem* 279:45998-46007

- Feeny P (1976) Plant apparency in chemical defense. *Recent Adv Phytochem* 10:1-40
- Felton GW (2005) Indigestion is a plant's best defense. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:18771-18772
- Gfeller A, Farmer EE (2004) Keeping the leaves green above us. *Science* 306:1515-1516
- Green TR, Ryan CA (1972) Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves – possible defense mechanism against insects. *Science* 175:776-777
- Howe GA (2004) Jasmonates as signals in the wound response. *J Plant Growth Regul* 23:223-237
- John SJ, Srivastava V, Guhamukherjee S (1995) Cloning and sequencing of chickpea cDNA coding for threonine deaminase. *Plant Physiol* 107:1023-1024
- Kessler A, Baldwin IT (2002) Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Annu Rev Plant Biol* 53:299-328
- Leelapon O, Sarath G, Staswick PE (2004) A single amino acid substitution in soybean VSP alpha increases its acid phosphatase activity nearly 20-fold. *Planta* 219:1071-1079
- Major IT, Constabel CP (2006) Molecular analysis of popular defense against herbivory: comparison of wound and insect elicitor-induced gene expression. *New Phytol* 172:617-635
- Mourad G, King J (1995) L-O-Methylthreonine resistant mutant of Arabidopsis defective in isoleucine feedback regulation. *Plant Physiol* 107:43-52
- Perkins MC, Woods HA, Harrison JF, Elser JJ (2004) Dietary phosphorus affects the growth of larval *Manduca sexta*. *Arch Insect Biochem Physiol* 55:153-168
- Rhoades DF, Cates RG (1976) Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. *Recent Adv Phytochem* 10:168-213
- Ryan CA (1990) Protease inhibitors in plants – Genes for improving defenses against insects and pathogens. *Annu Rev Phytopath* 28:425-449
- Satriano J (2004) Arginine pathways and the inflammatory response: interregulation of nitric oxide and polyamines: review article. *Amino Acids* 26:321-329
- Staswick PE (1990) Novel regulation of vegetative storage protein genes. *Plant Cell* 2:1-6

- Szamosi I, Shaner DL, Singh BK (1993) Identification and characterization of a biodegradative form of threonine dehydratase in senescing tomato (*Lycopersicon esculentum*) leaf. *Plant Physiol* 101:999-1004
- Umbarger HE (1956) Evidence for a negative-feedback mechanism in the biosynthesis of isoleucine. *Science* 123:848
- Vincendeau P, Gobert AP, Daulouede S, Moynet D, Mossalayi MD (2003) Arginases in parasitic diseases. *Trends parasitol* 19:9-12
- Walling LL (2000) The myriad plant responses to herbivores. *J Plant Growth Regul* 19:195-216
- Yeh KW, Chen JC, Lin MI, Chen YM, Lin CY (1997) Functional activity of sporamin from sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam): a tuber storage protein with trypsin inhibitory activity. *Plant Mol Biol* 33:565-570

الباب الثامن

اللكتينات النباتية والمواد العطرية المتطايرة في دفاع النبات ضد الآفات
أولاً : اللكتينات النباتية جزء من نظام دفاع النبات ضد الحشرات

Plant Lectins as Part of the Plant Defense System Against Insects

العديد من النباتات تحتوي على بروتينات مرتبطة بالكربوهيدرات والتي يطلق عليها بشيوع لكتينات Lectins . لقد كان يعتقد أن بعض من هذه اللكتينات تلعب دوراً في دفاع النبات ضد الحشرات . في هذا المقام سوف نستعرض وضع في البحث في مجال لكتين النبات وإلقاء الضوء عن أهم مخرجات النشاط الالابدى للكتينات على الحشرات التي تنتمي لعائلات مختلفة . لقد تم التفرقة بين اللكتينات التقليدية التي تعبر تكوينياً واللكتينات المحفزة . كذلك سوف نناقش كيفية إحداث الفعل والمواقع المستهدفة في جسم الحشرة .

١- مقدمة

خلال النشوء والتطور طورت النباتات مدى عريض من ميكانيكيات الدفاع لمجابهة هجوم مسببات الأمراض النباتية وآكلات الأوراق . هذه الميكانيكيات تتضمن وسائل الدفاع الميكانيكية والكيميائية والسماح للنبات بالبقاء والمعيشة في نفس البيئة كما هو الحال مع مهاجمة الأعداء . كجزء من ميكانيكية الدفاع الميكانيكية تقوم النباتات بتخليق قسم خاص من بروتينات الدفاع وهو اللكتينات النباتية وهذه تمثل مجموعة غير متجانسة من البروتينات التي تتداخل بشكل خاص مع كربوهيدرات خاصة . في هذا المقام سوف نركز على دور البروتينات المرتبطة بالكربوهيدرات (Lectins) في دفاع النبات ضد الحشرات . سوف نناقش بالتفصيل النشاط الالابدى ضد الحشرات لعائلات مختلفة من البروتينات المرتبطة بالكربوهيدرات . كذلك سوف نناقش بعض النتائج الحديثة عن اللكتينات المحفزة في دفاع النبات ضد الحشرات .

E.J.M. Van Damme

Laboratory of Biochemistry and Glycobiology , Department of Molecular Biotechnology , Ghent University , 9000 Gent , Belgium .

e-mail : ElsJM.VanDamme@Gent.be

A. Schaller (ed.) , Induced Plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008 .

٢- توزيع لكتينات النبات

العديد من النباتات تتضمن النباتات التي نحصل منها على الطعام مثل القمح والأرز والبطاطس والطماطم وفول الصويا والفول وهي تحتوى على بروتينات مرتبطة بالكربوهيدرات والتي يشار إليها باللكتينات أو الأجلوتينات أو الهيماجلوتينات . تبعاً للتعريف الحديث المقترح فإن هذه المجموعة من البروتينات تشمل " جميع البروتينات النباتية التي تملك واحد على الأقل من الدوائر غير المحفزة التي ترتبط عكسياً مع السكريات الخاصة الأحادية أو المحدودة " . حتى الآن تم عزل حوالي ٥٠٠ من اللكتينات النباتية المختلفة وتم توصيفها جزئياً . من النظرة الأولى فإن جميع هذه اللكتينات تكون مجموعة غير متجانسة من البروتينات بسبب الاختلافات الواضحة فى التركيب والتخصصية والأنشطة البيولوجية . هذا ولو أن غالبية جميع اللكتينات النباتية يمكن تقسيم على أساس تحاليل التراكييب وبيانات التتابع فى سبعة عائلات من البروتينات المرتبطة تركيبياً ونشوياً . عائلات اللكتين هذه تشمل :

١- القטיפية Amaranthins .

٢- لكتينات لحاء القرعيات .

٣- اللكتينات المرتبطة بالكيتين التى تتكون من دوائر Hevein .

٤- اللكتينات المرتبطة مع GNA .

٥- اللكتينات المرتبطة بالجاكالين Jacalin .

٦- لكتينات البقوليات .

٧- اللكتينات مع دوائر الريسين (Van Damme et al., 2007b) B .

حديثاً تم الإشارة إلى دليل عن حدوث سلسلة متجانسة من الأجلوتينين فى نباتات Agaricus bisporus وسلسلة متجانسة من قسم V chitinases مع نشاط مرتبط بالسكر .

ولو أن اللكتينات ولمدة طويلة اعتبرت بروتينات بذور تقليدية فإن حدوث لكتينات النبات فى الأنسجة النباتية أصبح الآن موثق جيداً . توجد اختلافات واضحة فيما يتعلق بموقع وتركيز اللكتينات المختلفة . لكتينات البذور وجدت أولاً فى الفلقات (أنواع البقوليات) أو فى الاندوسيرم ولكنها قد تكون قاصرة على المحور الأولى (مثل القمح) . لكتينات البذور تمثل بوجه عام ٠,١ - ٥% من البروتين الكلى فى البذور . لم يتم الكشف عن لكتينات البذور فى جميع الأنسجة الخضرية على امتداد الأوراق والسيقان والقلب والأبصال والريزومات والجذور وحتى الأزهار وعصير اللحاء وحتى الرحيق . تركيزات

اللكتين في أنسجة التخزين الخضري قد تصل إلى ٥٠% من البروتين الكلى بينما في الأنسجة الأخرى يكون اللكتين مجرد آثار (كما في أوراق الكرات) . في المتوسط فإن اللكتينات في الأنسجة الخضرية تصل إلى ٠,١ - ٥% من البروتين الكلى.

٣- اللكتينات النباتية التقليدية والمحفزة

لسنوات عديدة ركزت بحوث اللكتينات النباتية على مجموعة اللكتينات التي تحدث بتركيزات معقولة وحتى العالية في الأنسجة النباتية المختلفة . بسبب تركيزات اللكتين العالية والتنظيم التطوري كان من الصعوبة تصور دور خاص لهذه اللكتينات داخل خلية النبات . العديد من الأدلة أظهرت أن غالبية هذه اللكتينات قد تشترك في تحقيق دفاع النبات. في هذا الخصوص فإن لكتينات النبات تختلف في الأساس عن لكتينات الحيوان لأن الأخير يشترك في عمليات تمييز خاصة داخل الكائن نفسه . إذا أخذ في الاعتبار الدليل المتزايد بأن التداخلات بين البروتين والكربوهيدرات ذات أهمية كبيرة جداً للتطور العادي والوظيفية في الكائنات الحيوانية وكذلك حقيقة أن الأنواع المختلفة من اللكتينات هي التي تعول هذه التداخلات بين البروتين والكربوهيدرات يبرز التساؤل ما إذا كان نفس الأدلة حقيقية مع النباتات . حديثاً فإن البحوث في اتجاه اللكتينات النباتية النشطة فسيولوجياً أدت إلى اكتشاف عائلات لكتين مختلفة والتي تعول التداخلات الضرورية للبروتين - كربوهيدرات في النبات نفسه . لقد تجمعت الأدلة بأن النبات تقوم بتخليق بروتينات مرتبطة بالكربوهيدرات معرفة جيداً (لكتينات) عند التعرض لإجهادات مثل العطش والملوحة العالية والجروح أو المعاملة ببعض الهرمونات (Zhang et al , 2000) . الدراسات الموضوعية أظهرت أنه على عكس اللكتينات النباتية التقليدية التي وجدت تقليدياً في الفجوات فإن اللكتينات المحفزة تقع حصرياً في السيتوبلازم والنواة . لقد اقترح أن هذا القسم الجديد من اللكتينات قد تلعب دوراً خاصاً داخل الخلية النباتية . في هذا المقام سنعطى فكرة مختصرة عن اللكتينات التقليدية والمحفزة التي تم تعريفها جيداً (جدول ٨-١) .

جدول (٨-١) : استعراض لعائلات اللكتين النباتية المختلفة ، موضعها وخصائص الارتباط الكربوهيدراتي والنشاط الالابادي على الحشرات .

Lectin family	Vacuolar lectins	Nucleocytoplasmic lectins	Carbohydrate specificity	Insecticidal activity*
Amaranthin family	No examples known	Documented in Amaranthus sp. And Pruus sp.	GalNAc/T antigen	+
Cucurbitaceae phloem	No examples known	Wide taxonomic distribution	(GlcNAc) _n N-glycans	?

Lectins / Lectine with Nictaba domain				
GNA-related lectins	Wide taxonomic distribution	Found in diverse taxa	Man High Man N-glycans	+++
Chitin – binding lectins	Wide taxonomic distribution	No examples known	(GlcNAc) _n N-glycans	++
Composed of hevein domains				
Jacalin – related lectins	Only documented in a few Moraceae sp.	Ubiquitous	Gal/T-antigen Man N-glycans	+
Legume lectins	Common in Fabaceae and Lamiaceae	No examples known	Man/Glc Gal/GalNAc (GlcNAc) _n Fuc, Siaa2-3 Gal/GalNAc	++
Lectins with Ricin – B domains	Wide taxonomic distribution	No examples known	Gal/GalNAc Siaa2-6 Gal/GalNAc	

* Insecticidal activity has been reported for many (+++) , several (++) , a few (+) or no (?) lectins from this plant family .

عائلة أمارانثين Amaranthin family

عائلة أمارانثين الذي أطلق عليها هذا الاسم بعد الكشف عن لكتين بذرة أمارانسييس كوداتس وهي عائلة صغيرة تحتوي على اللكتينات القريبة من بعضها التي وجدت في أنواع أمارانسييس . جميع الأمارانثينيات المعروفة عبارة عن بناء من الديمرات المتجانسة التي تحتوي على تحت وحدات 33 KDa . أظهرت دراسات التخصص التفصيلية أن الأمارانثين يميز T- entigen disaccharide Gal1, B (1,3) GalNAc .

لكتينات لحاء القرعيات

عائلة لكتينات لحاء القرعيات عبارة عن مجموعة صغيرة من الأجلوتينيات المرتبطة بالكيتين التي وجدت في إفرازات لحاء عدد من أنواع القرعيات (Sabnis and Hart)

(1978 . يطلق عليها هذه اللكتينات كذلك بروتينات اللحاء PP2 وهي بروتينات ديميرية
تبنى من تحت وحدات تقارب 22 KDU .

اللكتينات المرتبطة GNA

فى عام ١٩٨٧ تم عزل اللكتين ذات التخصص الاجبارى للمانوز (Man) وتم
توصيف خصائصه فى أبصال زهرة اللين الثلجية *Galanthus nivalis* . ما يطلق عليه
G.nivalis agglutinin (يختصر GNA) يرجع إلى النوع الأولى للعائلة المتوسعة
للكتينات المرتبطة بالمانوز التى تحدث فى عديد فى عائلات النباتات وحيدة الفلقة
Alliaceae , Liliaceae , Orchidaceae , Araceae , Bromeliaceae ,
Ruscaceae , Iridaceae (Yagi et al., 1996) . لذلك فإن هذه المجموعة من
اللكتينات كان يشار إليها فى الأصل باللكتينات المرتبطة بمانوز نباتات وحيدة الفلقات .
حديثاً تم تعريف لكيتينيات شبيهة جداً فى النباتات بخلاف *Lilopsida* (كما فى حشيشة
لقائق الكبد وكذلك فى البكتريا والحيوانات) . لذلك يطلق على هذه المجموعة من
اللكتينات الآن بدوائر - GNA بعد تعريف المركب الأول . جميع لكيتينيات البنات مع
دوائر -GNA تتكون من تحت وحدات تقارب 12 KDa الذى أظهرت تخصص للمانوز
للكتينيات المرتبطة -GNA من النباتات المختلفة تظهر اختلافات واضحة فى التخصص
تجاه الأوليغومانوسيدات وكذلك ن - جليكانات (Kaku et al., 1990) .

اللكتينات المرتبطة بالكيتين المكون من دوائر الهيفين

الاسم هيفين Hevein يشير إلى البولى ببتيد ذات ٤٣ حمض أمينى مرتبط بالكيتين
الذى يوجد فى لبن شجرة المطاط *Hevea brasiliensis* . العديد من بروتينات النبات
ترجع نشاطها المرتبط بالكيتين إلى وجود واحد أو أكثر من دوائر الهيفين . هذا ولو أنه
أتضح أن اللكتينات المختلفة ذات الهيفين لها قابلية عالية إلى ن - جليكوسيلات فى
الجليكوبروتينات الحيوانية . هذه المجموعة من اللكتينات واسعة الوجود وتحدث فى كلا
وحيدة الفلقة (مثل أجلوتينين جنين القمح WGA) وثنائية الفلقات مثل (لكيتين البطاطس)
فى الأنواع النباتية.

اللكتينات المرتبطة بالجاكالين

عائلة اللكتينات المرتبطة بالجاكالين تشمل جميع البروتينات مع واحد أو أكثر من
الدوائر التى تتكافىء تركيبياً مع الجاكالين واللكتين المرتبط بالجلالكتوسيد من بذور ثمار
الجاك . فى السنوات الحديثة تم اكتشاف العديد من اللكتينات المرتبطة بالجاكالين ذات
تخصصية تجاه المانوز وتم توصيفها بالتفصيل . الآن تم تقسيم عائلة اللكتينات المرتبطة
بالجاكالين إلى تحت عائلتين مع تخصصية متميزة وتركيب جزيئى متميز . اللكتينات

المرتبطة بالجالاكتوز Gal - الجاكالين الخاص تبنى من أربعة محفزات منقسمة تتضمن تحت وحدات صغيرة (متبقيات B ، ٢٠ حمض أميني) وكبيرة (& - ١٣٣ حمض أميني) ولها تفضيل واضح للجالاكتوز أكثر من المانوز (Bourne et al., 2002) . على العكس فإن اللكتينات المرتبطة بالمانوز والجاكالين الخاص تبنى من محفزات غير منقسمة من حوالى ١٥٠ حمض أميني لكل منها حيث تحقق تخصصية حصرية تجاه المانوز .

لكتينات البقوليات

من الناحية التاريخية فإن لكتين البقول Legume lectin يشير إلى البروتينات التي ترتبط تركيبياً ونشويًا بنوع اللكتين المعروف جيداً والذي اكتشف في الأصل في بذور البقوليات (Fabaceae) مثل فول الجاك والفول الشائع والبسلة والفول السوداني وفول الصويا . حتى وقت قريب كانت لكتينات البقول توجد في عائلة Fabaceae . هذا ولو أن عزل وكلونة الأجلوتينين قريب الارتباط تركيبياً ونشويًا من أوراق Glechoma hederacea أظهر أن اللكتينات المرتبطة عن قرب تحدث كذلك في عائلة Lamiaceae عائل لكتينات البقول من نوعى Fabaceae ، Lamiaceae متجانسة كما في التركيب الجزيئى للاكتينات الأصلية . جميع اللاكتينات تتكون من تحت وحدات تقارب 30 KDa والعديد منها جليكوبروتينات .

ولو أن المواقع الشاملة للكتين ومواقع ارتباطه بالكربوهيدرات محفوظة بدرجة عالية إلا أن عائلة لكتين البقول تظهر عدم تجانس ملحوظ في النشاط المرتبط بالسكر (Young and Oomen , 1992) . لكتينات البقول مع التخصص الموجه ضد الجالاكتوز Gal (ن- أسيتيك جالاكتوسامين (GalNAc) ، مانوز / جلوكوز (Man / Gle) ، الفكوز (Fuc) ، ن - أسيتايل جلوكوسامين (GI , NAc) ، وحامض سياليك وجدت كذلك على صورة لكتينات عديدة حصريا تراكيب جليكان أكثر تعقيدا . على العكس فإن اللكتينات من أنواع Lamiaceae تظهر تخصصية توجه أوليا ضد الأنتيجين T-(GalNAc& - 1 Ser / Thr) .

لكتينات مع دوائر ريسين - B

هذه المجموعة من اللكتينات النباتية كان يشار إليها قبلا على أنها البروتينات المعطلة بالريبوسوم وتختصر (RIPs) بسبب حقيقة أن هذه البروتينات تم تعريفها في البداية على أنها بروتينات نباتية تعطل ريبوسومات Pukaryotic من خلال إزالة بقايا الأدينين المحفوظ من RNA الريبوسومى الكبير (Stripe,2004) . فى الوقت الحالى فإن RIPs تعتبر إنزيمات تسمى ن - جليكوسيليزيس (EC3.2.22) ذات المقدرة على كسر مخلفات

الأدينين من وسائط بولى نيوكلو تيدات المختلفة . بناء على تراكيبها الجزئية فإن RIP's تقسم إلى RIP's من النوع ١ ، النوع ٢ ، النوع ٣ وهى بروتينات وهمية Chimeric تبنى من بروتوميرات تتكون من سلسلة إنزيمية نشطة A- وسلسلة B- مرتبطة بالكربوهيدرات وكلاهما مشتقان من بادىء منفرد ويمسكا معاً بواسطة رابطة دايسلفيد . فى النهاية فإن RIP's من النوع ٣ عبارة عن بروتينات وهمية تبنى من دوائر ن - جليكوسيليز مع ن - طرفية مرتبط بدائرة ذات كربون طرفى ومازالت طريقة إحداث الفعل والفاعلية نفسها غير معروفة . إذا أخذ فى الاعتبار تعريف اللكتينات النباتية فإن السلسلة B- للنوع RIP's 2- يمكن أن تقسم كإطار لكتين . لذلك فإن إطار اللكتين يشار إليه كإطار ريسين B- وسمى بعد ذلك " ريسين Ricin " وهو أول وأكثر RIP شهرة من بذور Ricinus communis .

معظم أطر الريسين B- النباتية تفضل الارتباط بالجالاكتوز أو GaINAc . هذا ولو بعض اللكتينات تظهر تفضيل واضح للسياليتيد جلايكانات (مثل Lectin للنبات سبموكس ينجرا) . كما ذكر أعلاه فإن RIP's من النوع الثانى ليس لكتينات فقط ولكنه يشمل أيضاً إنزيمات قادرة على تعطيل الريبوسومات (تحفيزياً) . لذلك فإنها توكسينات خلوية شديدة الفعل والتأثير على الأقل تحت الظروف التى تحقق لها نجاح دخول الخلية النباتية . من الأمثلة الأكثر وضوحاً للنوع RIP 2- هو الريسين المتناهى السمية . هذا ولو أنه اتفق على أن معظم النوع RIP 2 للكتين متوسط أو ضعيف السمية . الاختلاف الكبير فى السمية لا يرتبط بالاختلافات فى النشاط التحفيزى للسلسلة A- ولكن ذلك يتحدد أولاً بواسطة قابلية اللكتين للنفاذ فى الخلية وهذه تعتمد بدورها على التخصصية المرتبطة بالسكر للسلسلة B-.

اللكتينات المحفزة

لقد تحصل على دليل لا يقبل الشك عن وجود اللكتينات المحفزة بالجسمونات من التجارب الحديثة على نباتات الدخان المعاملة بالجسمونات . النباتات غير المعاملة لا تحتوى على نشاط لكتين واضح . بعد المعاملة بالجسمونات عبرت الأوراق لنباتات الدخان الصغيرة عن تركيزات منخفضة من اللكتين (تسمى ن . تاباكوم أجلونثيسين أو Nictaba) مع تخصصية تجاه الأوليجوميرز لمركب ن - أسيتايل جلوكوسامين . نكتابا عبارة عن ديمر متجانس مكون من تحت وحدات 1g KDa . أظهر تحليل التتابع للنكتابا ومقارنة مع تتابعات أخرى فى قواعد المعلومات أن لكتين النبات هذا يمثل عائلة جديدة من بروتينات السيئوبلازم المحفزة مع تشابه تتابع مع لكتينات لحاء القرعيات . دراسات الموضع المناعى أكدت أن نكتابا يعبر عنه فى السيئوبلازم والأنوية . بالإضافة إلى ذلك ظهر دليل عن تداخل اللكتين مع بروتينات عديدة فى نواة النبات .

مثال آخر عن اللكتين المحفز يتمثل في اللكتين المرتبط بالمانوز (يسمى أوريساتا Oryzata) والذي يحفز في نباتات الأرز بواسطة إجهاد الملوحة والجفاف والعدوى بالمرض والهورمونات النباتية حمض الجسمونيك وحمض الأبسيسيك (ABA) . لقد وصف هذا البروتين عام ١٩٩٠ على أنه ملح Salt (بروتين محفز بالملح Clees et al., 1990) وبعد ذلك تم تعريفه على أنه لكتين ينتمي لعائلة المانوز - جاكالين متخصص - المرتبطة باللكتينات . حيث أن الأوريساتا يخلق فقط تحت ظروف إجهاد خاصة إضافة إلى أنه يقع في السيتوبلازم والنواة فإنه يفترض أن هذا اللكتين يلعب دوراً في استجابة النبات لعوامل الإجهاد المعروفة جيداً .

حديثاً تم تعريف عائلات أخرى للكتينات النبات السيتوبلازمية النووية والتي يفترض أن تكون لها خصوصية تجاه المانوز والجالاكتوز . من سوء الطالع أن دراسة هذه اللكتينات تجاهه بعقبة مستويات التعبير المنخفضة جداً للكتينات (حتى بعد التحفيز) .

٤ - النشاط الالابادى للكتينات النباتية ضد الحشرات

خلال الحقبان الأخيرتان نشرت العديد من التقارير عن النشاط الالابادى للكتينات النباتية ضد الحشرات ضد العديد من الآفات الحشرية التى تنتمى لرتب حرشفية وغمدية وثنائية ومتجانسة الأجنحة (Sharma et al., 2004) . كلا التحاليل خارج الجسم In vitro مع الغذاء الصناعى المقوى باللكتين والتحليل فى داخل الجسم In vivo مع النباتات المتحولة وراثياً التى تعبر عن جين اللكتين الغريب أظهرت الفاعلية العالية للعديد من لكتينات النبات كبروتينات الالابادية للحشرات . فى هذا المقام سوف نتناول باختصار الخصائص الالابادية للحشرات التى تأكدت مع اللكتينات التى تنتمى لعائلات لكتين مختلفة (جدول ٨-١) .

أماراتثينات

إذا أخذ فى الاعتبار الموضع الحصرى للأماراتثينات فى البذور وقابليتها العالية للأنتيجين T- يمكن تصور أن هذه اللكتينات تشترك فى دفاع النبات ضد مفترسات البذور . هذا ولو أنه فى الوقت الراهن توجد معلومات قليلة جداً متاحة عن الدور الفسيولوجى للأماراتثينات ودورها فى دفاع النبات . بعض الدراسات الحديثة على تعبير A. caudatus أجلوتينين (ACA) فى لحاء نباتات الدخان والقطن أدت إلى الاقتراح بأن جين ACA يمكن أن يعتبر جين مقاومة فعال ضد المن (Wu et al., 2006) . التحليل الحيوى على من الخوخ ومن القطن أظهر أنه يحدث تثبيط ٧٥% ، ٦٠% على التوالي فى نمو مجموع المن النامى على النباتات المتحولة وراثياً مع تثبيط أقصى لمستويات اللكتين .

اللكتينات المرتبطة باللكيتين المكون من دوائر الهيفين

ميزة تداخلها مع Glc NAc - أوليجو ديمرات فإن اللكتينات ذات دوائر الهيفين (البولى ببتيدات ذات ٤٣ حامض أميني المرتبط باللكتين) كان يعتقد دائماً أنها مرتبطة بدفاع النبات ضد الحشرات . تجارب التغذية على البيئات الصناعية أكدت أن العديد من هذه اللكتينات المرتبطة بالكيتين تتداخل مع نمو وتطور الحشرات . كمثال فإن WGA ، لكتين الأرز ، لكتين القراص اللادغ ، ولكتينات البطاطس والتفاح ذات تأثير تثبيطى متوسط على تطور يرقات سوسة البسلة WGA يثبط نمو يرقات دودة جذور الذرة الجنوبية ويقتل فقس ناقبة الذرة الأوربية عند تركيزات منخفضة . بالإضافة إلى ذلك فإن WGA تظهر نشاط ضد اليرقات لحشرة لوسيليا كوبرينا . على نفس المنوال فإن لكتين فينتولاكا أميريكانا قاتل ليرقات جذور الذرة الجنوبية . حديثاً أشار Gupta et al,m (2005) إلى تأثير WGA ضد اليرقات الصغيرة لدودة اللوز الأمريكية . نتائج تجارب التغذية لم تترك ظلالاً من الشك بأن بعض اللكتينات المرتبطة بالكيتين ذات تأثيرات ضارة خطيرة على الحشرات القارضة عندما تختبر فى البيئات الصناعية . فى الوقت الحالى مازال مطلوباً إثبات أن تعبير اللكتين المرتبط بالكيتين فى النباتات المهندسة وراثياً تقدم حماية زائدة ضد الحشرات القارضة . الاختيارات مع البيئات الصناعية الغذائية أظهرت أن WGA أثرت سلباً على نمو وتكاثر نطاط الأوراق البنى الذى تتغذى على لحاء الأرز ومن الخردل . بالإضافة إلى ذلك فإن تحول الخردل الهندى مع cDNA التى تشفر WGA أدت إلى الحصول على نباتات تسبب موت عالى وخفض فى خصوبة المن .

اللكتينات المرتبطة مع GNA

بدون شك فإن اللكتينات المرتبطة - GNA من أكثر العائلات التى درست فى اتجاه اللكتينات النباتية بهدف إلقاء الضوء عن دورها فى دفاع النبات ضد الحشرات الملتزمة للنباتات وغيرها من اللا فقاريات . من الفقد فى صالح دور الدفاع ضد الحشرات الماصة ما لوحظ من أن بعض هذه اللكتينات تتراكم فى عصارة اللحاء . حقيقة أن اللكتين المرتبط بمانوز وحيدة الفلقات من أكثر البروتينات المتوفرة فى إفراز لحاء سيقان الزهور فى البصل تتفق مع الدور الدفاعى المقترض ضد الحشرات التى تمتص عصارة اللحاء (Peumans et al., 1997) .

GNA كان اللكتين الأول الذى وجد أنه يؤثر على نمو وتطور الحشرات الماصة للعصارة وقد درست تأثيراتها الابدائية على الحشرات بالتفصيل . أظهرت العديد من التجارب التى أجريت على البيئات المغذية الصناعية أن لكتين نبات اللبن الثلجية ذات تأثيرات ضارة على تطور وتكاثر الآفات متجانسة الأجنحة التى تنتمى إلى عائلة المن وعائلات Cicadelidae , Delphacidne فى نفس الوقت أكدت الدراسات التى أجريت على النباتات المهندسة وراثياً الدخان والقمح والبطاطس والأرز على النشاط الابدائى

للحشرات للكتينات المرتبطة مع GNA من رتبة متجانسة الأجنحة (المن) وأوضحت أن التعبير الخارجى Ectopically للـ GNA ذات تأثيرات مدمرة على المن ونطاطات الأوراق . بالإضافة إلى متجانسة الأجنحة فإن GNA يحدث تأثيرات فعالة وضارة فى كلا البيئات المغذية الصناعية والنباتات المهندسة وراثياً على نمو وتطور يرقات حرشفية الأجنحة بما فيها فراشة الطماطم وثاقبة الأرز المكسيكية وثاقبة قصب السكر ودودة اللوز الأمريكية .

ولو أن GNA بالتأكيد بروتين مبشر جداً فى إبادة الحشرات إلا أن مجهودات كثيرة تبذل لتعريف البدائل المتميزة داخل عائلة اللكتين . أظهر التحليل المقارن أن بعض اللكتينات المرتبطة مع GNA فى نباتات العائلة Alliaceae أكثر كفاءة من GNA نفسه فى نواحي النشاط الخاص للأجلوتينية . ولو أن البعض قد يفترضون أن النشاط الإبادى ضد الحشرات للـ GNA واللكتينات المرتبطة به يرتبط لحد ما بالنشاط المرتبط بالسكر / التخصصية فإنه يبدو من الضرورى الكشف عما إذا كانت بعض اللكتينات المرتبطة مع GNA مبشرة كمبيدات حشرية فعالة . على امتداد السنوات القليلة الأخيرة أظهرت العديد من الدراسات أنه ليس GNA فقط ولكن العديد من اللكتينات المرتبطة - GNA أيضاً لها تأثيرات ضارة محسوسة على الحشرات الماصة للعصارة وكذلك بعض الديدان . على سبيل المثال فإن التقييم الحيوى مع البيئات المغذية الصناعية أظهرت أن لكتين أوراق الثوم ASAL كانت عالية السمية لآفات نصفية الأجنحة *N. lugeres* , *N. virescens* . تحليل نباتات الدخان والخردل المهندسة وراثياً التى تعبر عن ASAL أظهر خفض فى بقاء وخصوبة هذه الحشرات (المن) التى تتغذى على العصارة . كذلك أوضح (Sadeghi et al., 2008) أن نباتات الدخان المهندسة وراثياً التى تعبر عن ASAL خفضت بشكل كبير الوزن الذى تكسبه يرقات دودة ورق القطن . اللكتينات تؤخر من تطور اليرقات وتضر بطور العذراء حيث يقل الوزن وتحدث تشوهات قاتلة . لقد كان نسبة الموت ١٠٠% مع ASAL بالمقارنة بنسبة ٦٠% مع ASAL .

اللكتينات المرتبط بالجاكالين

أظهرت تجارب التغذية على البيئات المغذية الصناعية أن لكتينات بذور عائلة Moraceae لها صفات مضادة للحشرات . كمثال فإن لكتين *Maclura pomifera* أظهر تأثير تثبيطى كبير على يرقات سوسة البسلة . على نفس المنوال فإن الجاكالين ولكتين *M. Pomifera* يثبط نمو يرقات دودة جذور الذرة الجنوبية . يؤثر الجاكالين كذلك على بقاء نطاط أوراق البطاطس . بناء على هذه الملاحظات يبدو أن لكتينات بذور العائلة التوتية المرتبطة بالجالاكتوز لها وظيفة دفاعية ضد الحشرات . فى الوقت الحالى يوجد قليل من المعلومات حول دور اللكتينات المرتبطة بالمانوز مع الجاكالين . لقد أوضح

(Chang et al., 2003) أن أجلوتينين نباتات *H. tubero* يحقق المقاومة لمن البطاطس والخبوخ . متوسط مجموع المن على النباتات المهندسة وراثياً التي تعبر جين اللكتين تتأقست بحوالى ٥٣ - ٧٠% بالمقارنة بالمجاميع الضابطة العادية خلال ١١ يوماً للتقييم الحيوى . بالإضافة إلى ذلك فإنه لوحظ تأخير نمو مجاميع المن مما أدى إلى الاقتراح بأن جين اللكتين هذا قد يكون مدخل آخر للهندسة الوراثية للنباتات لتحقيق المقاومة ضد الآفات الحشرية متجانسة الأجنحة (Chang et al., 2003) .

لكتينات البقول

العديد من بذور البقوليات تحتوى على تركيزات عالية من اللكتينات . لقد اقترح أنه تحت الظروف العادية فإن هذه اللكتينات تعمل مثل بروتينات تخزين الجنيوين . هذا ولو أنه بمجرد أكل النبات فإن اللكتينات تنتهى فى القناة الجوفمعية للمفترس وتعمل كبروتينات دفاعية . بعض لكتينات البقول أظهرت سمية للحشرات حيث تتداخل مع تطور الحشرة عندما تختبر خارج الجسم . كمثال أجلوتينين الفول السودانى المرتبط بالجالاكتوز وكذلك لكتين البذور الأساسى من الفول المجنح أظهر تأثير مثبط على تطور يرقات سوسة البسلة . على نفس المنوال فإن لكتين *B. purpurea* قاتل لليرقات حديثة الفقس لحشرة *O.nubilalis* وتثبط نمو يرقات *D. undecimpuactata* حديثاً أتضح أن لكتين أوراق *B.monadra* تسبب ٥٠% موت لحشرات *C.maculatus* و *Z.subfasciatus* عندما يوضع فى الغذاء الصناعى بمعدل ٠,٥% ، ٠,٣% (وزن / وزن) على التوالى ولكنها لا تخفض بشكل كبير بقاء الحشرة *A.kuehniella* عند تركيز ١% (وزن / وزن) . لكتينات الفول الأفريقى يؤثر على بقاء الحوريات حيث يخفض النمو ويؤخر وقت التطور الكامل للحشرة *C.tomeatosiotollis* مما يؤدى إلى حدوث سمية شاملة شديدة . وضع ن - أسيتيل جلوكوسامين - لكتين GS- 11 من أوراق وبذور نبات *G.simplicifolia* فى الغذاء الطبيعى ضاعفت من وقت تطور سوس البسلة . على نفس المنوال فإن لكتين ذات - أسيتيل جلوكوسامين من *K.paniculata* أثرت على تطور اليرقات *C.maculatus* وكذلك *A. kuehniellu* (Macedo et al., 2003) .

تأثيرات اللكتين الخاص Man / Gle من نباتات *C.ensiformis* (Cancanavalin A , Con A., Jackbem) اختبرت على الآفات الزراعية من رتبة حرشفية ومتجانسة الأجنحة . عندما تغذى ليرقات فراشة الطماطم فى البيئة المغذية الصناعية فإن ConA تؤخر التطور وتقلل من البقاء حتى ٩٠% موت عند تركيز لكتين ٢% (وزن / وزن) للبروتين الكلى فى الغذاء الصناعى : فى الغذاء الصناعى السائل فإن ConA تخفض كذلك من حجم من الخوخ حتى ٣٠% وتؤخر التطور والنضج وتقلل من الخصوبة ولكن لها تأثير قليل على البقاء . التقييم الحيوى مع *L.oleracea* لليرقات

على نباتات البطاطس التي تعبر عن ConA أظهرت أن اللكتين يؤخر تطور اليرقات ويقلل من وزن اليرقات بمقدار أكبر ٤٥% وليس لها تأثير كبير على البقاء . ينقص كذلك استهلاك أنسجة النبات بواسطة اليرقات . في توافق مع نتائج التقييم الحيوى للغذاء فإن البطاطس التي تعبر عن ConA تخفض كذلك من خصوبة من الخوخ حتى ٤٥% . لذلك فإن ConA فعال كمادة وقائية ضد الآفات الحشرية في النباتات المهندسة وراثياً (Gatehouse et al., 1999) .

الاختبارات على النباتات المهندسة وراثياً أظهرت أن نباتات الدخان التي تعبر عن جين لكتين البسلة زادت من المقاومة ضد دودة اللوز الأمريكية (Boulter et al., 1990). بالإضافة إلى ذلك فإن نبات شلجم الزيت المتحولة وراثياً التي تعبر عن لكتين البسلة تقلل من معدل نمو يرقات خنفساء حبوب اللقاح M.aeneus . لقد لوحظ ارتباط سالب بين تركيز اللكتين ونمو اليرقات .

ولو أن بعض التقارير القديمة أشارت إلى سمية لكتين الفول PHA (مع تخصصية معقدة) للحشرات فإن الباحث (1990) Murdrck et al., أظهر بوضوح أن PHA غير سام على سوسة البسلة وأن التأثيرات السامة التي سجلت في السابق كانت بسبب تلوث تحضيرات اللكتين بمثبط الالفا - أميليز . لقد اتضح حقيقة أنه من خلال كلا التقييم الحيوى في خارج الجسم والنباتات المتحولة وراثياً أن البروتينات المرتبطة باللكتين من الفول والمسماه الفا - أميليز والأركيلين ما هي إلا بروتينات فعالة ضد الحشرات عن اللكتين نفسه . كمثال فإن المستويات المنخفضة من مثبط الالفا - أميليز في غذاء الفول أحدث بتثبيط كبير في نمو اليرقات من الحشرات التي تفترس البذور مثل سوس البسلة وغيرها . بالإضافة إلى ذلك فإن بذور البسلة التي تعبر عن الفا - أميليز الفول اكتسبت مقاومة ضد سوس البسلة والفول . هذا ولو أن هذا البروتينات المرتبطة باللكتين ترتبط نشوياً بلكتين جينوين من الفول ولكنها لا ترتبط بالكربوهيدرات (Osborn et al., 1988) .

أساس اللكتينات مع ريسيس B- : ولو أن دور اللكتينات مع أساس ريسين B- لم تفهم بعد بشكل كامل فإنه يوجد اعتقاد متنامى بأن هذه البروتينات تلعب دوراً في الدفاع ضد بعض الفيروسات والفطريات . ولكن القليل جداً من البحوث توجهت نحو دراسة تأثير هذه اللكتينات على الحشرات . هذا ولو أنه في السنوات الحديثة تراكمت الأدلة لاقتراح دور للبروتينات التي تعطل الريبوسوم في حماية النباتات ضد الحشرات . كمثال فإن سمية سينامومين من النوع RIP 2 من نبات سيناموم كامفورا لوحظت تجاه لوز القطس وبعوض الكيوليكس وكذلك يرقات دودة الحرير . حديثاً تمت الإشارة إلى النشاط الابادى ضد الحشرات للنوع RIP 2- من اللب . لقد أظهر RIP اللب نشاط تجاه كل من من الدخان ودودة الورق الصغيرة عندما عبر عنه في الدخان .

٥- آكلات النبات الحشرية التي تحفز تعبير بعض اللكتينات في النباتات

تعبير اللكتين المحفز بالجسمونات في أوراق الدخان استجابة للعديد من العوامل الحيوية واللا حيوية درس باستفاضة . من بين جميع الهورمونات النباتية التي درست كان حامض الجسمونيك فقط هو القادر على تحفيز تعبير لكتين (١٥ - ٢٠ ملجم / جم ورق بعد ٣ أيام من الطفو على محلول الجسمونات ٥٠ ميكرومول) . هذا ولو أن الجروح لا تحفز تعبير اللكتين . حيث أن الجسمونات عبارة عن جزيئات إشارة هامة في دفاع النبات ضد آكلات الأوراق كما أن آكلات النباتات وتأثيراتها درست في نباتات الدخان النامية في الصوب بعمر ١٦ أسبوع . تم عدد الأوراق بيرقات دودة ورق القطن مما أدى إلى زيادة في تركيزات الجسمونات في الورقة والتي تحفز تعبير الكيتين بدورها (١٥٠ - ٢٠٠ ميكروجرام / جم ورقة) . عندما سمح لليرقات بالتغذية على ورقة فردية لوحظ حدوث تحفيز جهازى لنشاط اللكتين في جميع الأوراق من النبات . أظهرت التجارب الأولية كذلك أن لكتين الدخان يظهر تأثير طارد على الحشرات القارضة .

لقد أشار (Zhu-Salzman et al., 1998) فى السابق أن تعبير لكتين *G.simplicifolia* II (GSII) المرتبط مع GlcNAc فى الأوراق يكون جهازياً (وليس موضعياً عند مكان المعاملة) حيث تنظم جيداً بعد الجرح وكذلك بواسطة المعاملة بحمض الجسمونيك . على نفس المنوال فإن هجوم الحشرات تنظم بشكل كبير تعبير GS - 11 فقط فى الأوراق الجهازية وليس فى الأوراق الموضعية . على العكس فى لكتين الدخان والذي يمكن الكشف عنه فقط بعد التحفيز حيث أن لكتين جريفونيا يعبر تركيبياً عند مستويات منخفضة ولكنها يمكن الكشف عنها فى نسيج الورقة .

لقد اتضح أن نباتات القمح تستجيب كذلك للحشرات مع تعبير جينات اللكتين (Williams et al., 2002) تغذية يرقات العمر الأول للطرز الحيوية الخاصة من ذبابة هيشيان على القمح سببت تغيرات فى تعبير العديد من النسخ عند موضع التغذية بما فيها mRNA للجين Hfr - 1 وهو لكتين مرتبط بالمانوز . لقد تمت الإشارة كذلك إلى أن تعبير الجين Hfr - 1 يحفز كذلك بواسطة حمض الساليسليك أظهر التحليل المتتابع أن أساس الكربون الطرفى لجينات Hfr - 1 يقلل أو يطرح تتابع الحمض الأمينى ويظهر تشابه فى التتابع مع اللكتينات المرتبطة بالجاكالين .

حديثاً قام (Puthoff et al., 2005) بتعريف جينات Hfr - 2 و Hfr - 3 واثنان آخران من جينات القمح المستجيبة لذبابة هيشيان فى القمح التى تحتوى على أساس اللكتين المشابه للهيفين والاماراتين على التوالى . إصابة القمح بيرقات هيشيان العنيفة أدت إلى حدوث تنظيم فائق لتعبير جين Hfr - 2 بحوالى ٨٠ مرة بالمقارنة بعدم الإصابة . التحليل المتتابع لجين Hfr - 2 أظهر أساس اللكتين ذات الكربون الطرفى مشابه لالتحام الأمارانتين

لمنطقة لكتينات تحلل الدم وقنوات تكوين التوكسينات . تعبير جين 2- Hfr ينظم بدرجة كبيرة بواسطة المعاملة بالمثل جسمونات وأن تغذية اللحاء بواسطة من الشوفان والسودة القارضة حيث أن الجروح وحمض الساليسيليك وحمض الأبسيسيك ذات تأثير قليل . مستويات mRNA للجين 3- Hfr مع أربعة أسس متتبا بهم من الهيفين المرتبط بالكتين اتضح أنه يزداد حوالي 300 مرة أعلى مما هو الحال مع المقابلة في تداخل غير متوافق بعد 3 أيام من فقس بيض ذباب هيشيان . حيث أن mRNA وفرة لجين 3- Hfr تعتمد على عدد اليرقات لكل نبات مما أدى الاقتراح بأن المقاومة موضعية أكثر منها جهازية . جين Hfr يستجيب كذلك لمن الشوفان ولا يستجيب للسودة القارضة . المعاملة بالجسمونات وحمض الساليسيليك وحمض الأبسيسيك أو الجروح لا تؤثر على تعبير الجين 3- Hfr . جميع هذه الدراسات أدت إلى الاقتراح بأن حزمة من اللكتينات تشترك في مقاومة القمح لذباب هيشيان .

٦- كيفية إحداث الفعل Mode of action

٦-١ - اللكتينات التقليدية

كما ذكر قبل فإن لكتينات النبات تشمل جميع بروتينات النبات التي ترتبط عكسياً مع أحادي أو أوليجو سكريات خاص . اللكتين التقليدي عديد التكافؤات ومن ثم يكون قادراً على الوزن أو تكتل الخلايا . على امتداد العقود الزمنية الماضية والأخيرة تم بلورة العديد من لكتينات النبات ودراسة التراكيب ثلاثية الأبعاد لها وفي الغالب في تعضيد مع الكربوهيدرات المكمل . أسفرت هذه الدراسات التركيبية عن الحصول على كم هائل من المعلومات القيمة عن التداخل مع موقع اللكتينات النباتية المرتبط بالسكر مع الكربوهيدرات والجليكوبروتينات . لقد اتضح أنه داخل عائلة معينة من اللكتينات تحدث تراكيب ثلاثية الأبعاد متشابهة جداً حتى ولو كانت هناك اختلافات واضحة في التخصص داخل عائلة لكتين خاصة . من الاعتقاد الشائع أن التداخل الخاص للكتين مع الكربوهيدرات يكون على المستوى الجزيئي لتحقيق الفاعلية في دفاع النبات . بالإضافة إلى ذلك يكون من الواضح أن تخصصية لكتينات النبات لا توجد ضد السكريات البسيطة ولكن ضد كربوهيدرات أكثر تعقيداً مثل N, U - جليكانات توجد على العديد من الجليكوبروتينات . معظم اللاكتينات التقليدية تميز بوجه متخصص الجليكانات الحيوية التقليدية (مثل حمض سياليك و GalNAc تحتوي على O-, N أوليجو سكريات مرتبطة) والتي توجد بوفرة على سطح الخلايا الطلائية المعرضة على امتداد القناة المعوية للحيوانات الراقية والديئة . حيث أن هذه الجليكانات ضرورية إضافتها مع بروتينات الغذاء التي تمثل مواقع ارتباط مؤثرة للكتينات النبات الغذائية . إذا حدث ارتباط مع هذه المستقبلات يؤدي إلى تأثيرات معاكسة حيث يحدث اللكتين تأثيرات ضارة أو سامة . تجارب التغذية مع الحشرات والحيوانات الكبيرة أكدت أن بعض لكتينات النبات تظهر تأثيرات سامة تتراوح من عدم

راحة خفيفة وحتى تسمم يؤدي للموت والتي تترك قليل من الشك بأن اللكتينات تلعب دور حقيقي في دفاع النبات ضد الحشرات و / أو الحيوانات المفترسة . في هذا الخصوص فإن النشاط الابادي ضد الحشرات للكتينات المرتبطة - GNA في توافق مع ارتباطها المفضل مع سلاسل الجليكان من النوع عالي المانوز وهي مكونات تقليدية لجليكوبروتينات الحشرة.

في الوقت الراهن فإن معلوماتنا عن ميكانيكية فعل لكتينات النبات مازالت محدودة . العديد من أنواع التداخلات يمكن وجودها داخل جسم الحشرة : لكتينات النبات خاصة الليكتينات المرتبطة بالكيتين والتي تستطيع التداخل مع مادة الكيتين للغشاء حول الغذائي Peritrophic membrane . بالإضافة لأي كيفية آخر مع موقع مرتبط بالكربوهيدرات يتكامل مع مقترنات الجليكو في الغشاء حول الغذائي أو المعرضة على طول سطح الخلية الطلائية للمعى الأوسط ويمكن أن ترتبط مع هذه التراكيب للكربوهيدرات في النهاية يمكن تصور أن ارتباط اللكتين لبغض إنزيمات الجليكولات / البروتينات يمكن أن تتداخل مع العمليات الخلوية الهامة لتأدية الوظيفة العادية للكائن (Czapla , 1997) .

في حالة اللكتينات المرتبطة بالكيتين فإن التأثير الضار على الحشرات قيل أنه يرجع إلى تلف الغشاء حول الغذائي بعد الارتباط المكثف للكتين على الكيتين الموجود في هذا التركيب الخاص (Lehane , 1977) . من الممكن وجود مواقع مستهدفة أخرى (البروتينات و / أو الأوليجو سكريات) في جسم الحشرة (مثل النسيج الدهني ، الهيموليمف ، أعضاء التناسل) . الغشاء حول الغذائي يتكون من مجمع الياف الكيتين والبروتينات ويوجد كمظروف في جدار معدة الحشرة والتي تقدم حماية طبيعية للخلايا الطلائية . هذا الغشاء له دور هام كذلك في تقسيم إنزيمات الهضم إلى جزيئات . من الأوقع ميلاً أن اللكتينات المرتبطة بالكيتين يمكن أن ترتبط مع الغشاء حول الغذائي يكون لها تأثيرات متنوعة مما يؤدي إلى تجويع ثم موت الحشرة في النهاية . لقد تأكدت هذه الفرضية بواسطة (Harpea et al., 1998) الذي أوضح أن مورفولوجية الغشاء حول الغذائي لثاقبة الذرة الأوربية تغيرت خلال ٢٤ ساعة من التغذية على غذاء WGA . على العكس مع يرقات المقارنة فإن اليرقات التي تغذت على WGA أظهرت غشاء حول غذائي متعدد الطبقات وغير متميز مع قطع من الخملات الدقيقة غير المتكاملة وجسيمات طعام مغروسة وبكتريا . بعد ٧٢ ساعة فإن الغشاء حول الغذائي لليرقات المغذاة على WGA كانت متعددة الطبقات وغير متصلة بما يسمح بقطع جدار الخلية بالنفاذ في الخملات الدقيقة للغشاء الطلائي . أظهر الفحص بالميكروسكوب الإلكتروني عدم اتصال شبكة اللكتين وخفض مادة البروتين .

لا يوجد ارتباط واضح بين تخصصية اللكتين والسمية ولكن الارتباط مع الجليكوبروتينات في المعى الأوسط للحشرة يبدو أنه مطلب مسبق لأي تأثير سام من

اللكتينات (Czaple , 1997) . التجارب على لكتين *G.simplicifolia* (GS - 11) كمثال أظهر ارتباط واضح بين ارتباط الوسيط والسمية تجاه حشرة البسلة *C.maculatus*. بالإضافة إلى ذلك فإن اللكتينات التي تسبب موت كبير أو خفض في وزن الجسم في حشرة *O.nubilalis* حيث ترتبط كذلك بشدة مع الفعل الابادى ضد الحشرات ومن ثم فإن ارتباط اللكتين ليس مقياس مطلق للتنبؤ بالسمية .

أتضح أن اللكتينات المرتبطة بالمانوز تتداخل مع مستقبلات الجليكولات في المعى الأوسط للحشرة . من بين المستقبلات الكبرى لجين *GNA* فى *N.lugens* حيث تم تعريفها كتحت وحدت الفيرتية مما أدى إلى الاقتراح بأن جين *GNA* قد يتداخل مع تمثيل الحديد فى الحشرة (Du et al., 2000) . أتضح أن *ConA* يتداخل مع مستقبلات الجليكولات عند سطح الخلية وأحدها تم تعريفه أخيراً على أنه أمينوببتيداز فى *Acyrtho siphom pisum* فى حالة لكتين ورقة الثوم *ASAL* أتضح الارتباط مع جزء الكربوهيدرات فى بروتينات مستقبلات حويصلات الغشاء الخارجى للفرشة ذات 55 KDa فى *on.d45* من الخردل وبق القطن الأحمر على التوالى . لقد أقترح أن ارتباط *ASAL* لهذه المستقبلات قد يقلل من نفاذية الغشاء كما هو واضح مع جينات اللكتينات المرتبطة بالمانوز و *ConA* الى تقلل من صعود وامتصاص المواد المغذية فى من البطاطس (Sauvion et al., 1996) .

بالإضافة لارتباط اللكتين مع بعض تراكيب / الكربوهيدرات فى الحشرة فإن المطلوب المسبق الثانى لإحداث النشاط الابادى على الحشرات يتمثل فى مقاومة اللكتين للانهيـار بسبب تحلل البروتين أشار (Zhu - Salzman et al., 1998) إلى ارتباط جيد بين النشاط المضاد الحشرى للكتين GS - 11 الخاص للجريفونيا *G1 cNac* ومقاومة للانهيـار بالتحلل البروتينى بواسطة مستخلصات المعى الأوسط لحشرة *C.meculatus* . التجارب على بروتينات الطفرة ناقصة الكربوهيدرات والنشاط الابادى على الحشرات أظهرت أن هذه البروتينات تهضم بسرعة بواسطة بروتيزيس الهضم فى المعدة . على نفس المنوال أتضح أن اللكتينات المرتبطة بالمانوز والجينات *GNA* , *ASLA* تظل ثابتة وتديم معدة الحشرة .

من المثير للاهتمام ما أظهره (Fitches and Gatehouse 1998) من أن ارتباط الجين *GNA* , *ConA* لإنزيمات فرش الغشاء الذائبة فى معدة الحشرة *L.Oleracea* والتي تؤثر على أنشطة الإنزيمات الذائبة فى غشاء الفرشة . أوضح التقييم الحيوى على المدى القصير أن كلا جينات *GNA* , *ConA* زادت من مستويات بروتينات المعدة ونشاط الأمينوببتيداز فى الغشاء . اللكتينات تزيد كذلك من نشاط التريسين فى المعدة (*ConA*) والبراز (*GNA*) . جين *GNA* تزيد كذلك من نشاط الألفا - جلوكوسيديز

ولكن اللكتين لا يؤثر على نشاط الألكالين فوسفاتيز . التقييم الحيوى على المدى الطويل لوحظ خفض فى نشاط الألفا جلوكوسيديز مع كلا اللكتينات ولكن لم يسجل أى تغيير مع أنشطة الإنزيمات الأخرى .

أظهرت التجارب على الفئران أنه فى بعض الحالات عدم الراحة الواضحة التى تتسبب من تناول اللكتينات والتى أظهرت أن حيوانات التجارب ترفض الاستمرار فى التغذية على الغذاء المحتوى على اللكتين مما يوضح تأثير مانع للتغذية . فى السنوات الأخيرة أجريت دراسات على السلوك مع الحشرات لمعرفة ما إذا كان هناك إعاقة حسية لنشاط اللكتين وتأثيرات اللكتين على سلوك الحشرة . لقد سجل نقص فى كمية الندوة العسلية التى تفرز مع بعض اللكتينات مثل GNA ولكتين البوسفوكاربين مما أدى إلى الاقتراح بأن هذه اللكتينات كمادة مانعة للتغذية .

٦-٢ - اللكتينات المحفزة

النباتات ذات ميكانيكيات دفاعية محفزة ذات تراكيب مختلفة عند التخلص منها لحماية نفسها ضد هجوم الحشرات . النظم المحفزة التى يعتقد أنها أكثر دوماً على المدى الطويل تلعب دوراً هاماً فى المقاومة وتؤدي إلى تأثيرات مختلفة على الحشرات ملتهمة النباتات كما فى أحداث السمية العالية وتأخير تطور الحشرات أو زيادة الحساسية للأعداء الطبيعية.

على امتداد السنوات القليلة الماضية أصبح من الواضح أن مسار الجسمونات يلعب دوراً هاماً فى مقاومة النبات ضد مدى عريض من آكلات النباتات الحشرية . خلال ٣ - ٥ ساعات بعد هجوم الحشرة لنباتات أرابيدوبسيس فإن مستويات تعبير المئات من تغير النسخ سجلت . لقد خلص Reymond et al., 2004 بأن تعبير ٦٧% - ٨٤% لهذه البروتينات يسيطر عليه بواسطة مسار الجسمونات . فى الوقت الحالى لا يعرف كيف أن لكتين الدخان المحفز بالجسمونات تحدث تأثيرها الإبادى ضد الحشرات . هناك وضوح بأن نظام الدفاع بناء على اللكتينات (المحفزة) كما تتعاطم بواسطة لكتين الدخان تختلف عن بروتينات الدفاع الأخرى المعروفة مثل مثبطات البروتينيز . مثبطات البروتينيز هذه معروف أنها تحقق تأثيرها خلال وقف نشاط إنزيمات الغذاء وعلى عكس لكتين الدخان المحفز والتى تحفز بمدى كامل من عوامل الإجهاد (مثل الجروح ، العدوى بالمرضات ، هجوم الحشرات) المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية أو حامض ساليسيليك .

References

- Agrawal AA (2003) Mechanisms, ecological consequences and agriculture implications of tritrophic interactions. *Curr Opin Plant Biol* 3:329-335
- Bandyopadhyay S, Roy A, Das S (2001) Binding of garlic (*Allium sativum*) leaf lectin to the gut receptors of hompteran pests is correlated to its insecticidal activity. *Plant Sci* 161:1025-1033
- Bourne Y, Astoul CH, Zamboni V, Peumans WJ, Menu-Bouaouiche L, Van Damme EJM, Barre A, Rough P (2002) Structural basis for the unusual carbohydrate-binding specificity of jacalin towards galactose and mannose. *Biochem J* 364:173-180
- Christou P, Capell T, Kohli A, Gatehouse JA, Gatehouse AMR (2006) Recent developments and future prospects in insect pest control in transgenic crops. *Trends Plant Sci* 11:302-308
- Czapla TH, Lang BA (1990) Effect of plant lectins on the larval development of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *J Econ Entomol* 83:2480-2485
- Down RE, Fitches EC, Wiles DP, Corti P, Bell HA, Gatehouse JA, Edwards JP (2006) Insecticidal spider venom toxin fused to snowdrop lectin is toxic to the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) and the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). *Pest Manag Sci* 62:77-85
- Eisemann CH, Donaldson RA, Pearson RD, Cadogan LC, Vuocolo T, Tellam RL (1994) Larvicidal activity of lectins on *Lucilia cuprina* – Mechanism of action. *Entomol Exp Appl* 72:1-10
- Fitches E, Audsley N, Gatehouse JA, Edwards JP (2002) Fusion proteins containing neuropeptides as novel insect control agents: snowdrop lectin delivers fused allatostatin to insect haemolymph following oral ingestion. *Insect Biochem Mol Biol* 32:1653-1661
- Gfeller A, Farmer EE (2004) Keeping the leaves green above us. *Science* 306:1515-1516
- Gupta GP, Birah A, Rani S (2005) Effect of plant lectins on growth and development of American bollworm (*Helicoverpa armigera*). *Indian J Agric Sci* 75:207-212
- Habibi J, Backus EA, Czapla TH (1993) Plant lectins affect survival of the potato leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *J Econ Entomol* 86:945-951

- Huesing JE, Murdock LL, Shade RE (1991) Effect of wheat germ isolectins on development of cowpea weevil. *Phytochemistry* 30:785-788
- Ishimoto M, Sato T, Chrispeels MJ, Kitamura K (1996) Bruchid resistance of transgenic azuki bean expressing seed alpha-amylase inhibitor of common bean. *Entomol Exp Appl* 79:309-315
- Kessler A, Baldwin IT (2002) Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Ann Rev Plant Biol* 53:299-328
- Lehane MJ (1997) Peritrophic membrane, structure and function. *Ann Rev Entomol* 42:525-550
- Majumder P, Mondal HA, Das S (2005) Insecticidal activity of *Arum maculatum* tuber lectin and its binding to the glycosylated insect gut receptors. *J Agric Food Chem* 53:6725-6729
- Musser RO, Hum-Musser SM, Eichenseer H, Peiffer M, Ervin G, Murphy JB, Felton GW (2002) Caterpillar saliva beats plant defenses. *Nature* 416:599-600
- Noghabi SS, Van Damme EJM, Smagghe G (2006) Bioassays for insecticidal activity of iris ribosome-inactivating proteins expressed in tobacco plants. *Commun Agric Appl Biol Sci* 71:285-289
- Osborn TC, Alexander DC, Sun SSM, Cardona C, Bliss FA (1988) Insecticidal activity and lectin homology of arcelin seed protein. *Science* 240:207-210
- Parret AH, Schoofs G, Proost P, De Mot R (2003) Plant lectin-like bacteriocin from a rhizosphere colonizing *Pseudomonas* isolate. *J Bacteriol* 185:897-908
- Peumans WJ, Hao Q, Van Damme EJM (2001) Ribosome-inactivating proteins from plants: more than RNA N-glycosidases? *FASEB J* 15:1493-1506
- Powell KS (2001) Antimetabolic effects of plant lectins towards nymphal stages of the planthoppers *Tarophagus proserpina* and *Nilaparvata lugens*. *Entomol Exp Appl* 99:71-77
- Rinderle SJ, Goldstein IJ, Matta KL, Ratcliffe RM (1989) Isolation and characterization of amaranthin, a lectin present in the seeds of *Amaranthus caudatus*, that recognizes the T-(or cryptic T)-antigen. *J Biol Chem* 264:16123-16131
- Sabins DD, Hart JW (1978) The isolation and some properties of a lectin (haemagglutinin) from *Cucurbita phloem* exudates. *Planta* 142:97-101

- Sharma HC, Sharma KK, Crouch JH (2004) Genetic transformation of crops for insect resistance: potential and limitations. *Crit Rev Plant Sci* 23:47-72
- Stripe F (2004) Ribosome-inactivating proteins. *Toxicon* 44:371-383
- Tsutsui S, Tasumi S, Suetake H, Suzuki Y (2003) Lectins homologous to those of monocotyledonous plants in the skin mucus and intestine of pufferfish, *Fugu rubripes*. *J Biol Chem* 278:20882-20889
- Van Damme EJM, Barre A, Rough P, Peumans WJ (2004). Cytoplasmic/nuclear plant lectins: a new story. *Trends Plant Sci* 9:484-489
- Vandenbussche F, Peumans WJ, Desmyter S, Proost P, Ciani M, Van Damme EJM (2004b) The type-1 and type-2 ribosome-inactivating proteins from *Iris* confer transgenic tobacco plants local but not systemic protection against viruses. *Planta* 220:211-221
- Wei GQ, Liu RS, Wang Q, Liu WY (2004) Toxicity of two type II ribosome-inactivating proteins (cinnamomin and ricin) to domestic silkworm larvae. *Arch Insect Biochem Physiol* 57:160-165
- Wu J, Luo X, Guo H, Xiao J, Tian Y (2006) Transgenic cotton, expressing *Amaranthus caudatus* agglutinin, confers enhanced resistance to aphids. *Plant Breed* 125:390-394
- Young NM, Oomen RP (1992) Analysis of sequence variation among legume lectins. A ring of hypervariable residues forms the perimeter of the carbohydrate-binding site. *J Mol Biol* 228:924-934
- Zhou X, Li XD, Yuan JZ, Tang ZH, Liu WY (2000) Toxicity of cinnamomin – a new type II ribosome-inactivating protein to bollworm and mosquito. *Insect Biochem Mol Biol* 30:259-264
- Zhu-Salzman K, Shade RE, Koiwa H, Salzman RA, Narasimhan M, Bressan RA, Hasegawa PM, Murdock LL (1996) Carbohydrate binding and resistance to proteolysis control insecticidal activity of *Griffonia simplicifolia* lectin II. *Proc Natl Sci USA* 95:15123-15128

ثانياً : المواد العطرية المتطايرة ودورها في دفاع النبات

Aromatic Volatiles and Their Involvement in Plant Defense. Anthony V. Qualley and Natalia Dudareva

أكثر من ١% من نواتج التمثيل الثانوية تمثل بواسطة المركبات المتطايرة التي تشترك في تكاثر ودفاع النبات . حوالي ٢٠% من هذه الحزمة المتطايرة عبارة عن مكونات عطرية تتكون من الفينيل بروبانويدز والبنزينويدز والفينيل بروبين والمواد العطرية المحتوية على النتروجين . بالرغم من التنوع العريض للمركبات العطرية فإن عدد صغير فقط هو الذي يتحرر وينطلق وفي الغالب على مستويات منخفضة استجابة لهجوم أنواع الحشرات الآكلة للنباتات . كميات متناثرة من المعلوماتية أظهرت أن المواد المتطايرة العطرية لها أدواراً في تنافر وسمية الكائنات المهاجمة وكذلك في جذب أنواع الحشرات النافعة التي تكافح وتسيطر على مجاميع الحشرات خلال الافتراس والتطفل . في هذا المقام سوف نستعرض المعلومات الجارية بالنظر للتخليق الحيوي للمواد المتطايرة العطرية التي تنبعث من النباتات وكذلك دورها في التداخلات بين النبات والحشرة وكذلك بين النبات والنبات وسوف نحاول إلقاء الضوء عن التساؤلات الكبيرة في محاولة للإجابة عليها .

N. Dudareva

Department of Horticulture and Landscape Architecture , University ,
West Lafayette , IN 47907 , USA

e-mail : dudareva@purdue.edu

A. Schaller (ed). Induced plant Resistance to Herbivory , © Springer
Science + Business Media B.V. 2008

١- مقدمة

المركبات المتطايرة تمثل ١% تقريباً من نواتج التمثيل الثانوية النباتية والتي تشمل وظائفها الأولية دفاع النبات ضد آكلات الأوراق والممرضات . هذه المواد المتطايرة عندما تنبعث من أنسجة النبات كجزء من نظام الدفاع يمكن أن تطرد أو تسمم الكائنات الغازية وحتى لو كانت تجذب الأعداء الطبيعية لآكلات النباتات وتحمي بشكل غير مباشر النباتات خلال التداخلات ثلاثية التغذية . عند تحرير المواد المتطايرة فإن أكل النبات الذي يتلف النبات يقلل على الفور من عدد غزواته بينما يغير النباتات المجاورة الواقعة تحت الخطر . في النباتات المجاورة فإن علامات التحذير تحفز تعبير جينات الدفاع وتنبعث المركبات المتطايرة Arimera et al., 2000 , Birtett et al., 2000 وفي بعض الحالات فإن النباتات الأقرب تستجيب أسرع لهجوم آكلي النباتات . المواد المتطايرة

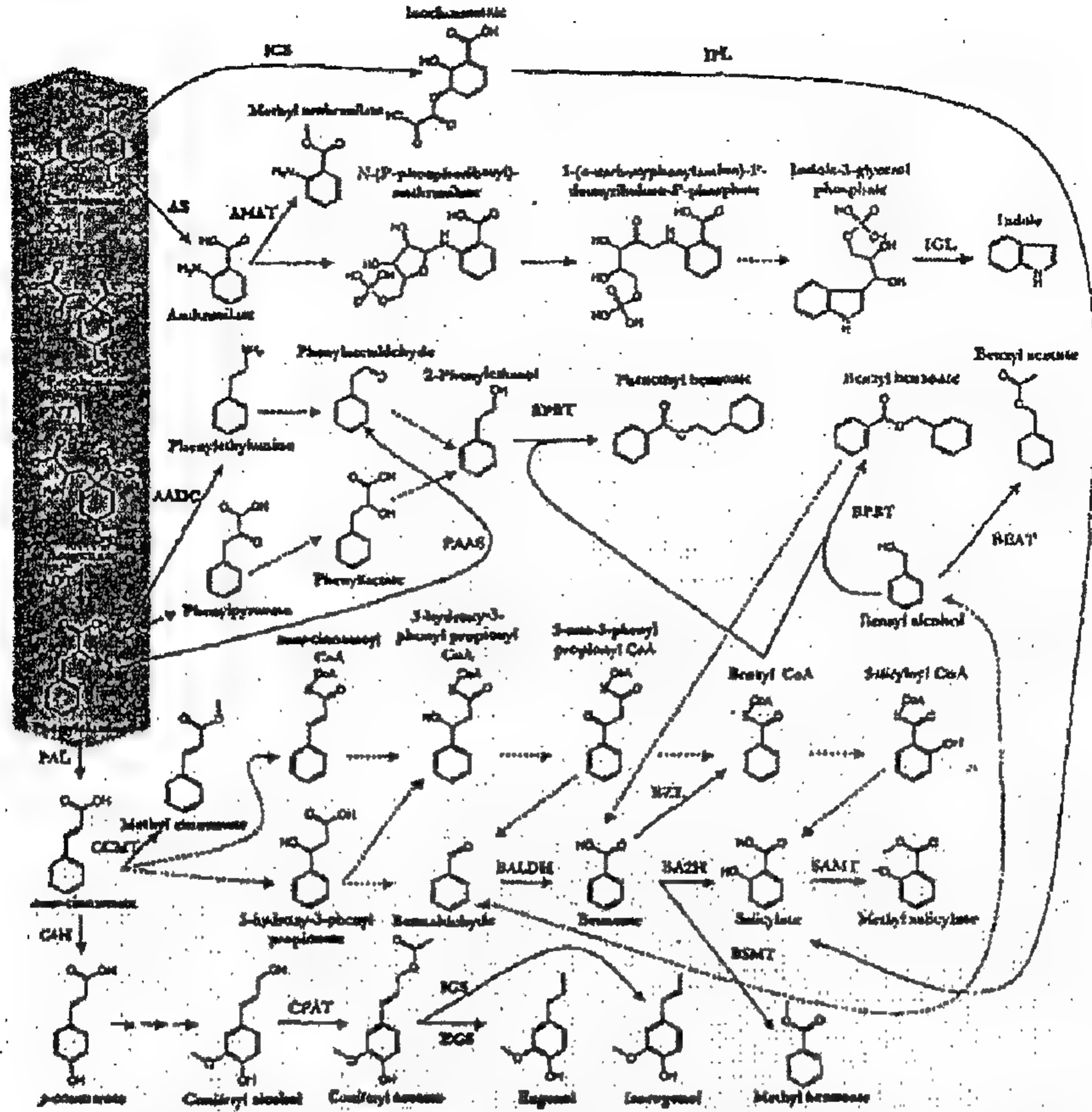
النباتية تمثل أساساً بالتربينويدز ، مشتقات الأحماض الدهنية ومشتقات الأحماض الأمينية بما فيها تلك الناتجة من L - فينيل الانين (phe) والفينيل بروبانويدز والبنزينودز . ولو أن عدد الفينيل بروبانويدز والبنزينويدز النباتية المتطايرة والتي تم تعريفها في النباتات تقارب التربيتويدز إلا أن البحوث الخاصة بمدى مشاركتها في التداخلات نبات - نبات ونبات - حشرة بعيدة تماماً عن التساوى . في السنوات العشر الأخيرة حدث بعض التقدم فيما يتعلق بالتخليق الحيوي للمركبات العطرية ولو أنه مازال لا يعرف إلا القليل حول مساهمتها في دفاع النبات . في هذا المقام سوف نركز على التخليق الحيوي للمركبات المتطايرة العطرية واشتراكها في دفاع النبات .

٢ - التخليق الحيوي للمركبات العطرية المتطايرة

٢-١ - الخطوة الأولى في التخليق الحيوي لغالبية مركبات الفينيل بروبانويدز

البنزينويدز تحفز وتساعد بواسطة إنزيم معروف جيداً واسع الانتشار وهو L - فينيل الانين أمونيليز (PAL) . هذا الإنزيم يساعد في عملية فقد الأمين لمركب L - فينيل الانين (phe) لإنتاج حامض ترانس - سيناميك . تكوين البنزينويدز (C1 - C6) من حامض السيناميك يتطلب تقصير السلسلة الجانبية بواسطة وحدة C2 والتي اقترحت العديد من المداخل لها (الشكل ٨-١) . هذه العملية تحدث خلال مسار الأكسدة - بيتا - التي تعتمد على CoA ومسار B - أكسدة الذي لا يعتمد على CoA أو خليط من كلا المدخلين . المسار المتفرغ للأكسدة B مرادفة للأكسدة B للأحماض الدهنية وتتقدم خلال تكوين أربعة وسائط من استر Co4 . تقصير السلسلة الجانبية لحامض ترانس سيناميك بواسطة الأكسدة - بيتا اتضح في الخزائر والدخلة في تجارب التغذية باستخدام النظير الثابت المشع ($^2\text{H}_6$, O18) - ٣ - هيدروكسي - ٣ - فينيل بروبيونيك أسيد والتي انتجت في

أحماض البنزويك والساليسيليك المعلمة إشعاعياً وليس البنزaldehid وهو الوسيط الفاتح في المسار غير الأكسدة بيتا (Jaruis et al , 2000) .



Proposed biosynthetic pathways leading to biosynthesis of volatile aromatic compounds in plants. Solid arrows indicate established biochemical reactions, whereas broken arrows indicate possible steps not yet identified. AADC, amino-acid decarboxylase; ADT, arogenate dehydratase; AMAT, anthraniloyl-coenzyme A (CoA):methanol acyltransferase; AS, anthranilate synthase; BA2H, benzoic acid 2-hydroxylase; BALDH, benzaldehyde dehydrogenase; BEAT, acetyl-CoA:benzyl alcohol acetyltransferase; BPBT, benzoyl-CoA:benzyl alcohol/phenylethanol benzoyltransferase; BSMT, S-adenosyl-1-Met:benzoic acid/salicylic acid carboxyl methyltransferase; BZL, benzoate:CoA ligase; C4H, cinnamate 4-hydroxylase; CCMT, S-adenosyl-L-Met:coumarate/cinnamate carboxyl methyltransferase; CFAT, acetyl-CoA:coniferyl alcohol acetyltransferase; CM, chorismate mutase; EGS, eugenol synthase; ICS, isochorismate synthase; IGL, indole:glycerol-3-phosphate lyase; IGS, isoeugenol synthase; IPL, isochorismate pyruvate lyase; PAL, L-phenylalanine ammonia lyase; PAAS, phenylacetaldehyde synthase; PNT, prephenate aminotransferase; SAMT, S-adenosyl-L-Met:salicylate carboxyl methyltransferase.

شكل (٨-١) : مسارات التخليق الحيوي المقترحة التي تؤدي إلى التخليق الحيوي للمركبات العطرية في النباتات . الأسهم المتصلة توضح التفاعلات البيوكيميائية المستقرة حيث الأسهم المنقطه غير المتصلة توضح الخطوات الممكنة التي لم تعرف بعد . (الإنزيمات المشتركة في المسارات مكتوبة بالإنجليزية كما هي) .

مسار الأكسدة - بيتا التي لا تعتمد على CoA يتضمن مائة حمض ترانس سيناميك الحر إلى ٣- هيدروكسي -٣- فينيل بروبيونيك أسيد وهدم السلسلة الجانبية عبر انقسام

عكسي للألدول مما يؤدي إلى تكوين البنزالدهيد والذي يتأكسد إلى حمض بنزويك بواسطة الإنزيم الذي يعتمد على $NADP^+$ والبنزالدهيد ديهيدروجينيز (BALDH). الميكانيكية غير الأكسدة - بيتا لتكوين حامض بارا - هيدروكسي بنزويك سجلت باستخدام الدراسات خارج الجسم والتي أجريت على مزارع معلق الخلايا للجزر والمستخلصات الخالية من الخالية لنباتات *L. erythrozoon* والبطاطس (French et al, 1976). هذا المسار يتميز بوجود بارا - هيدروكسي بنزالدهيد كوسيط هام في عملية التمثيل الذي يتكون قبل الأكسدة إلى حامض بارا - هيدروكسي بنزويك ويتطلب الدهيد ديهيدروجينيز لتحويل الالدهيد إلى حامض الكربوكسيليك المقابل له. التحول اللا تأكسدي لحامض ترانس - سيناميك إلى البنزالدهيد يتبعها أكسدة لحامض البنزويك والتي اتضحت في مزرعة خلايا *H. androsaemum* باستخدام مسار البادئات الخاصة المعلمة إشعاعياً. من المثير للاهتمام أن هذا المسار لا يوجد في مزارع خلايا نباتات *C. erythraea* (Gentianaceae) بينما حامض ٣- هيدروكسي بنزويك يبدو أنه ينشأ في الأصل مباشرة من مسار الشيكيمات (Abd EL - Mawla et al., 2001). إسهام كلا المسارات التي تعتمد على الأكسدة - بيتا والتي لا تعتمد عليه تجاه تكوين مركبات البنزينويدز ظهر حديثاً في أزهار البيتونيا باستخدام النظير الثابت المعلم إشعاعياً والتحليل الموازر بالحاسب الآلي لتدفق التمثيل. بالإضافة إلى ذلك فإن الاكتشاف الحديث للتخليق الحيوي لحامض ساليسيلك أدى إلى الاقتراح بأنه قد يتكون مباشرة من الأيزوكوريسمات خلال استجابة نبات الأرابيدوبسيس للممرض مما يزيد من إمكانية التخليق الحيوي للبنزينويد من وسائط مسار شيكيميات / كوريسمات بشمول أكبر فإن هذه النتائج توضح المسارات المختلفة لمركبات بنزينويد التي توجد في العائلات النباتية المختلفة وحتى في النوع ذاته اعتماداً على الظروف الفسيولوجية. ميكانيكية تقصير السلسلة الجانبية تظل محل تساؤل هام لم يتم الإجابة عليه ومن المدهش أنه لا يعرف إلا القليل حتى وقتنا هذا حول الإنزيمات والجينات المسؤولة عن التخليق الحيوي لمركبات الفينيل بروياتويدز / بنزينويد. هذا ولو أنه قد حدث تقدم في اكتشاف الإنزيمات والجينات المشتركة في الخطوات النهائية لتكوين البنزينويد المتطاير. لقد وجد أنه تحت عائلتان عظيمتان للإنزيم تساهمان بدرجة كبيرة في الخطوات النهائية للتخليق الحيوي للبنزينويدز المتطايرة. هذه تشمل عائلة BAHD للأسيتايل ترانسفيريزس وسميت بهذا الاسم بناء على الإنزيمات الأربعة المتميزة الأولى في هذه العائلة.

BEAT (acetyl - CoA : benzl alcohol acetyltransferase), AHCT (anthocyanin O- hydroxycinnamoyltransferase), HCBT Anthranilate N- hydroxycinnamoyl / benzoyltransferase) and DAT (deacetylvindoline 4 - o- acetyltransferase; D' Auria, 2006) And the SABATH family of methyltransferases, also named based on the first

identified genes belonging to this family . SAMT (SAM : salicylic acid carboxyl methyltransferase) , BMT (SAM : benzoic acid carboxyl methyltransferase) , And theobromine synthase (D' Auria et al., 2003) .

الاسيتل ترانسفيريز ينتمى إلى العائلة السوبر BAHD يحفز التحور الأكثر شيوعاً لنواتج التمثيل الثانوية باستخدام الكحولات والاسيتل CoAs كوسائط لتكوين الاسيل استرات والعديد منها متطاير . إنزيمات التخليق الحيوى التى تكون بنزيل أسيتات ، بنزيل بنزوات ، فينيل اثيل بنزوات ، أسيتاميل أسيتات تم عزلها وتوصيفها من أنواع النباتات المختلفة بما فيها البيتونيا والموز وكلارنيا بريورى (Du ' Auria et al., 2002) .

أفراد عائلة SABATH للميثيل ترانسفيريز تكون استرات المثيل المتطايرة للسالييلات والبنزوات والسينامات والبارا - كومات . هذه الإنزيمات تستخدم S-أدينوسيل - L - ميثيونين لإحداث مثلة مجاميع الكربوكسيل ذات الجزيئات الصغيرة . لقد تم عزل ١١ من هذه المثيل ترانسفيريز وتم توصيفها على المستوى الجزيئى والبيوكيميائى والتركيبى خلال الحقبة الزمنية الماضية . لقد تم تمييز نوعان من الإنزيمات بناء على تفضيل الوسيط : إنزيمات النوع SAMT المعزولة من *C.breweri* ، *S.floribunda* ، *Antirrhinum majus* ، *Hoya carnososa* ، *Petunia* التى لها كفاءة تحفيزية عالية وتفضيل لحامض الساليسيليك وإنزيمات النوع BMT من *A.majus* ، *ارابيدوبسيس ثاليانا* ، *ارابيدوبسيس ليراتا* و *نيكوتيانا سوفولونيس* التى تفضل حمض البنزويك . حديثاً تم عزل الكربوكسيل مثيل ترانسفيريز التى تحدث مثلة ترانس سينامات وبارا - كومات مع كفاءة عالية من الريحان . من المدهش أن إنزيم الكربوكسيل ميثيل ترانسفيريز المعزول حديثاً لم يتعقد مع إنزيمات من النوع BMT ، BMT التى تملك بدلاً من *ارابيدوبسيس إنزيم ٣- أسيتيك أسيد* كربوكسيل ميثيل ترانسفيريز وهى فعل نسبى معروف قريب (Kapteyn et al., 2007) .

حتى الآن لم يتم عزل أى من الجينات التى تشفر حزمة الإنزيمات فى داخل شبكة البنزينويد التى تؤدى إلى تكوين بادئات المركبات المتطايرة هذا ولو أنه ظهرت وتأكدت وإنزيم بنزويك أسيد - (BZL) ليجيز A-أنشطة الإنزيمات بنزويل - المرافق الإنزيمى A-المستولة عن تكوين بنزويل - المرافق الإنزيمى (BA2H) ٢- هيدروكسيليز (Leon et al,1995) والدخان على التوالى *C. breweri* وحمض الساليسيليك فى نباتات

تكوين مركبات المرتبطة بالفينيل بروبانويد (ك٦ - ك٢) مثل الفينيل أسيتالدهيد ، ٢- فينيل ايثانول من phe لم يحدث عبر حامض ترانس سيناميك ويتنافس مع PAL

للاستفادة من phe . علاوة على ذلك فإن التفسير الكمي لحركات الفينيل أسيتالدهيد ، ٢- فينيل إيثانول المعلم إشعاعياً مع الديوتيريوم - phe المعلم إشعاعياً أدى إلى الاقتراح بأن الفينيل أسيتالدهيد في أزهار البيتونيا ليس هو البادئ الوحيد لمركب ٢- فينيل إيثانول وأن التدفق الأكبر لهذا المركب الأخير خلال طريق مختلف وربما يكون خلال الفينيل بيروفات وحامض الفينيل أسيتيك كما تأكد حديثاً في أزهار الورد . على العكس فإن لا الفينيل بيروفات ولا الفينيل أسيتات تم الكشف عنهما في ثمار الطماطم والتي تشير إلى ذلك ضمناً في هذا النظام حيث أن ٢- فينيل إيثانول تتكون أساساً من الفينيل أسيتالدهيد عبر فعل الإنزيم الذي عرف حديثاً فينيل أسيتالدهيد ريدكتازيس . التخليق الحيوي للفينيل أسيتالدهيد من phe تتطلب إزالة كلا مجاميع الكربوكسيل والأمينو والذي تحدث في البيتونيا بواسطة فعل إنزيم الفينيل أسيتالدهيد سينسيز (PAAS) في الطماطم فإن phe يتحول أولاً إلى فينيل إيثيل أمين بواسطة إنزيم الذي يحدث فقد الكربوكسيل في الحمض الأميني العطري (AADC) ويتطلب فعل إنزيم الأمين أكسيداز المفترض ، ديهيدروجينيز أو ترانس أمينيز لتكوين الفينيل أسيتالدهيد (Tieman et al., 2006) .

الفينيل بروبيونات المتطايرة (ك٦ - ك٣) مثل الأيوجينول والأيزوايوجينول والميثيل: أيوجينول والأيزوميثيل أيوجينول والشافيكول والمثيل شافيكول تشارك في خطوات التخليق الحيوي مع المسار البيوكيميائي للجنين حتى مرحلة الفينيل بروبينول (مونو لجنول) وحينئذ تتطلب تفاعلين إنزيمين لإيقاف فعل الأكسجين وظيفياً عند الموضع C - 9 (Koeduka et al., 2006) الإنزيمات التي تكون الفينيل بروبين تم عزلها وتوصيفها من الريحان والبيتونيا و C. breweri . في هذه الأنواع فإن كحول الكونيفيريل يتحول أولاً إلى كوينفيريل أسيتات بواسطة إنزيم كوينفيريل الكحول أسيتايل ترانسفيرية (CFAT) قبل أن يختزل بواسطة أيوجينول سينسيز أو أيزوايوجينول سينسيز (EGS or IGS) إلى الأيوجينول والأيزوايوجينول على التوالي . هذا ولو أن CFAT ونظائره تم تعريفها فقط في البسلة والبيتونيا . ولو أن الأيوجينول والأيزوايوجينول تختلف حصرياً في موضع الرابطة الزوجية للسلسلة الجانبية للأيوجينول فإن تكوينها في البيتونيا يعال بواسطة اثنان مختلفان وذواتا تنوع كبير لإنزيمات ريدكتازيس التي تعتمد على NADPH. على العكس فإن C.breweri تحتوى ثلاثة إنزيمات متميزة للريدكتازيس التي تعتمد على NADPH اثنان منها مسئولة عن تكوين الأيوجينول والثالث يملك نشاط للأيزوايوجينول سينسيز . هذا بينما أن واحد من الأيوجينول سينسيز (EGS) خاصة المشابه أيزو يرتبط عن قرب من الأيزوايوجينول سينسيز (IGS) والآخر ذات تنوع عالى . على غرار دور كوينفيريل أسيتات في تكوين الأيوجينول والأيزوايوجينول في البيتونيا فإن الكوماريل أسيتات يعمل كبادئ للتخليق الحيوي للشافيكول في الريحان (Vasseo et al., 2006) . في الغالب فإن الأيوجينول والأيزوايوجينول والشافيكول

يحدث لها مثثلة إضافية وإنزيم الميثيل ترانسفيريز مسئولة عن إنتاج الميثيل أيوجينول والأيزومثيل أيوجينول والميثيل شافيكول حيث تم تعريفها وتوصيفها من نباتات C. breweri والريحان (Wang et al.1997) .

٢-٢- المواد العطرية المتطايرة المشتقة من الكوريسمات

أحد مركبات البنزينويد المتطايرة التي تتكون استقلابياً من phe هو الميثيل أنثرانيليت والبادئ له الانثرانيليت يخلق من الكوريسمات . حيث أن الانثرانيليت سينسيز تم عزله وتوصيفه من أنواع النباتات العديدة أما الإنزيم المسئول عن مثثلة أنثرانيليت كربوكسيل لم يعرف بعد . من الممكن أن إنزيم كربوكسيل ميثيل ترانسفيريز ينتمي إلى عائلة SABATH للميثيل ترانسفيريزيس مسئول عن هذه العملية في بعض الأنواع ولو أن فرد من عائلة BAHD للأستيل ترانسفيريزيس والانثرانيلول مرافق إنزيمي A : ميثانول استيل ترانسفيريز (AMAT) وجد مسئول عن تكوين ميثيل انثرافيلات في عنب الكونكورد (Wang and Defuca 2005) . وسيط أنثرانيلول - مرافق إنزيمي A- الذي يستخدم بواسطة AMAT يخلق بواسطة مشتق BZL كما اتضح من BZL المنقى جزئياً من C.breweri والتي تملك نشاط لإنزيم انثرانيلول - مرافق إنزيم ليجيز .

مركبات الدفاع النباتية العطرية المتطايرة التي تتكون بصفة مستقلة عن phe تتضمن كذلك مركب الاندول المحتوى على النتروجين وهو ناتج تمثيل غير متجانس الحلقات شائع في النباتات الراقية . تكوين الاندول في النباتات يحدث من الكوريسمات عبر مسار التخليق الحيوى للتربتوفان الموصف جيداً والتي تسبق تكوين التربتوفان . الخطوة الأخيرة للتخليق الحيوى للاندول تحفز بواسطة إنزيم اندول -٣- جليسرول فوسفات ليز (IGL) والذي يكسر الجليسرول المفسفر من اندول -٣- جليسرول فوسفات مع تكوين الاندول المتطاير (Frey et al., 2004) . ICL للذرة تشتق من تربتوفان سينسيز وتحت وحدة الألفا الخاصة به مسئول عن تكوين الاندول الذى يشق إلى تحت وحدة بيتا وتحويلها إلى التربتوفان . خلال النشوء فإن شعب IGL من تربتوفان سينسيز بما يسمح بالقيام بوظيفته بفاعلية استقلابياً من تحت وحدة البيتأ بما يسمح بانفراد الاندول المتطاير وهى العملية التي لا تحدث في التخليق الحيوى للتربتوفان . بالإضافة إلى ذلك فإن جين IGL تنشط بالنسخ في الذرة استجابة لآكلات النباتات والاستخدام الخارجى للجسمونات أو الفوليكتية من تقىء الآفة . هذا الاستخدام يحفز نظام التعبير بالتوازي مع مستوى الاندول المتطاير المنبعث .

٣- المواد العطرية المتطايرة ودفاع النبات

في العقدين الأخيرين تم توثيق أن النباتات تبعث خلطات من المركبات المتطايرة من أنسجتها استجابة للتلغ الذى تحدثه آكلات النباتات . رائحة المخاليط التي تنبعث من

النباتات التي هوجمت بالآفات متنوعة وتتكون من أكثر من ٢٠٠ مركب مختلف توجد غالباً كمكونات صغرى . فى العديد من الحالات فإن هذه المكونات الصغرى عبارة عن مركبات عطرية . المواد المتطايرة المنبعثة تؤثر مباشرة على فسيولوجى وسلوك آكلات النباتات بسبب خصائصه السامة والطاردة أو مانعات التغذية وجذب الأعداء الخاصة بأكلات النباتات المهاجمة مثل الدبابير الطفيلية والذباب أو الأكاروسات المفترسة لحماية النباتات المؤشرة من تلف لاحق . كذلك فإن بعض المركبات المتطايرة تعول كلا الدفاعات المباشرة وغير المباشرة كما أتضح من المثل ساليسيلات .

٣-١- المواد المتطايرة العطرية فى الدفاع المباشر للنبات

تضمن المركبات المتطايرة فى الدفاع النباتى المباشر تلقى قبول عريض وفى الوقت الحالى فإنه من المدهش عدم معرفة إلا القليل حول دور المواد العطرية المتطايرة فى إحداث السمية أو كرد أو إيقاف تغذية آكلات الأوراق . لم يوجد سوى ٣٢٩ من المركبات المتطايرة فينيل بروبانويدز المعروفة وهى تمثل جزء بسيط فى النباتات التالفة بواسطة آكلات الأوراق وتلك المنفردة من مدى محدود من أنواع النباتات وعند مستويات منخفضة جداً (الجدول ٨-٣) . بالإضافة إلى ذلك فإن النشاط الحيوى تجاه الحشرات أتضح حتى مع المواد العطرية المتطايرة القليلة . خصائص الطرد للمثل ساليسيلات تجاه الأنواع العديدة من المن لوحظت فى جهاز قياس الشم والتجارب الحقلية . فى دراسات السلوك طرد المثل ساليسيلات لمن الفول الأسود كما أحدثت تثبيط فى جذبها للإشارات الخاصة للعائل من الفول البلدى (Hardie et al., 1994) . فى الحقل أدى الاستخدام الخارجى للمثل ساليسيلات إلى تأخير هجرة واستقرار من الشوفان على نباتات الشعير (Pettersson et al., 1994) .

هناك مركب عطرى آخر يملك نشاط طارد وهو الايوجينول وهو مكون كبير فى القرنفل وبعض أنواع الريحان . الايوجينول مركب طارد جيد لأربعة أنواع من الخنافس *Sitophilus granaries* , *Sitophilus zeamais* , *Tribolium* and *prostephonus truncates* كما يقوم بتثبيط تطور بيض *S.granaries* and *S.zeamais* واليرقات والعذارى داخل لب الحبوب . بالإضافة إلى ذلك فإن النشاط الابادى ضد الحشرات تأكد مع مدى عريض من المركبات العطرية مثل بنزيل بنزوات ، بنزيل ساليسيلات والأيذوايوجينول والمثل أيوجينول والمثل سينامات والسينام الدهيد والسافرول والأيزوفرول (Ngoh et al., 1998) . بينما انبعثت هذه المركبات استجابة لهجوم آكلات الأوراق سجل فى النباتات فإن العديد من المركبات العطرية الأخرى (كما هو مدون ٨-٢) . تتبعث من النباتات التى هوجمت بواسطة آكلات النباتات ولكن الأنشطة الحيوية تجاه الآفة والحشرات النافعة مازالت فى حاجة للتقدير .

جدول (٨-٢) : المواد العطرية المتطايرة التى تحفز بواسطة آكلات النباتات . المدخلات تقسم إلى مجاميع بداية بواسطة المركب ثم النوع النباتى ونوع الآفة وتاريخ النشر

Compound	Plant Species	Herbivore	Reference
Indol	<i>Arachis Hypogaea</i>	<i>Spodoptera Exigua</i>	Cardoza et al. (2002)
	<i>Gossypium herbaceum</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Gouinguene et al. (2005)
	<i>Gossypium</i>	<i>Spodoptera</i>	Loughrin et al. (1994 , 1995a) Rose et al., (1996) Pare and Tumlinson (1997 , 1998 and Rodriguez - Saona et al. (2003)
	<i>Phaseolus lunatus</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Mithofer et al. (2005)
	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	
	<i>Zea mays</i>	<i>Rhopalosiphu m maidis</i>	Bemasconi et al. (1998)
	<i>Zea mays</i>	<i>Spodoptera exigua</i>	Frey et al. (2000) ; Schmelz et al. (2003) and D' Alessandro et al. (2006)
	<i>Zea mays</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Turlings (2005) and Gouinguene et al. (2005)
Methylsalicylate	<i>Capsicum annum</i>	<i>Tetranychus wrticae</i>	Van Den Boom et al. (2004)
	<i>Datura stramonium</i>	<i>Tetranychus uricae</i>	Van Den Boom et al. (2004)
	<i>Glycine max</i>	<i>Teranychus urticae</i>	Van Den Boom et al. (2004)
	<i>Humulus lupulus</i>	<i>Teranychus urticae</i>	Van Den Boom et al. (2004)
	<i>Medicago truncatula</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Leitner et al. (2005)

تابع جدول (٨-٢) : المواد العطرية المتطايرة التي تحفز بواسطة آكلات النباتات .
المدخلات تقسم إلى مجاميع بداية بواسطة المركب ثم النوع النباتي
ونوع الآفة وتاريخ النشر

Compound	Plant Species	Herbivore	Reference
	<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Van Den Boom et al. (2004)
	<i>Vicia faba</i>	<i>Aphis fabae</i>	Hardie et al. (1994)
	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Gouinguene et al. (2005)
	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Van Den Boom et al. (2004)
	<i>Vitis vinifera</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Van Den Boom et al. (2004)
Methylanthranilate	<i>Gossypium herbaceum</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Gouinguene et al. (2005)
	<i>Zea mays</i>	<i>Rhopalosiphum exigua</i>	Bernasconi et al. (1998)
	<i>Zea mays</i>	<i>Spodoptera exigua</i>	D' Alessandro et al. (2006)
	<i>Zea mays</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	D' Alessandro and Turlings (2005) and Gouinguene et al. (2005)
2-phenylethyl acetate	<i>Zea mays</i>	<i>Rhopalosiphum maidis</i>	Bernasconi et al. (1998)
	<i>Zea mays</i>	<i>Spodoptera exigua</i>	D'Alessandro et al. (2006)
	<i>Zea mays</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Degen et al. (2004) ; D'Alessandro and Turlings (2005) and Gouinguene et al. (2005)
Benzyl acetate	<i>Zea mays</i>	<i>Rhopalosiphum maidis</i>	Bernasconi et al. (1998)
	<i>Zea mays</i>	<i>Spodoptera exigua</i>	D' Alessandro et al. (2006)

تابع جدول (٨-٢) : المواد العطرية المتطايرة التي تحفز بواسطة آكلات النباتات . المدخلات تقسم إلى مجاميع بداية بواسطة المركب ثم النوع النباتي ونوع الآفة وتاريخ النشر			
Compound	Compound	Compound	Compound
	<i>Zea mays</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Degen et al. (2004) and Gouinguene et al. (2005)
Methylbenzoate	<i>Gossypium herbaceum</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Gouinguene et al. (2005)
	<i>Malus sp.</i>	<i>Tetranychus uricae</i>	Takabayashi et al. (1991)
	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Gouinguene et al. (2005)
	<i>Zea mays</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Gouinguene et al. (2005)
2-phenylethanol	<i>Malus sp.</i>	<i>Popila japonica</i>	Lougrin et al. (1995b)
	<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Van Den Boom et al. (2004)
3-hexenyl benzoate	<i>Malus sp.</i>	<i>Panonychus ulmi</i>	Takabayashi et al. (1991)
	<i>Malus sp.</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Takabayashi et al. (1991)
Cresol	<i>Medicago truncatula</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Leitner et al. (2005)
	<i>Phaseolus lunatus</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Hopke et al. (1994)
Trimethylbenzene	<i>Medicago truncatula</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Leitner et al. (2005)
	<i>Medicago truncatula</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Leitner et al. (2005)
3,5 dimethoxytoluene	<i>Medicago truncatula</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	Leitner et al. (2005)
3,5 dimethylanisole	<i>Medicago truncatula</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Leitner et al. (2005)
Benzene acetonitrile	<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Van Den Boom et al. (2004)
Benzyl alcohol	<i>Phaseolus lunatus</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Hopke et al. (1994)
Ethyl benzoate	<i>Malus sp.</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Takabayashi et al. (1991)
Phenylacetonitrile	<i>Malus sp.</i>	<i>Popilla japonica</i>	Loughrin et al. (1995)

٣-٢- المواد المتطايرة في دفاع النبات غير المباشر

بالإضافة إلى الدفاعات المباشرة فإن النباتات التي تهاجم بواسطة آكلات الأوراق تدافع عن نفسها بطريقة غير مباشرة بواسطة تحرير وانفراد المواد المتطايرة التي تجذب مفصليات الأرجل المفترسة والمتطفلة والأعداء الطبيعية التي تهاجم آكلات النباتات . التداخلات بين المستويات الغذائية الثلاثية للنبات - آكل النبات - المفترس / شبيه الطفيل منذ أن اقترحت لأول مرة عام ١٩٨٠ انتشرت بشكل عريض في المملكة النباتية . في الوقت الحالي تأكدت هذه الظاهرة في أكثر من ٢٣ نوع نباتي مع خليط متنوع من النباتات وآكلات الأوراق والأعداء الطبيعية (Dicke , 1999) . من أفضل الدراسات عن التداخلات ثلاثية التغذية تلك التي وجدت بين نباتات فول اللبنة والأكاروسات التي تهاجم النباتات والأكاروسات والأكاروسات آكلة الحيوانات . إصابة نباتات فول اللبنة بواسطة الأكاروسات تحفز انبعاث المواد المتطايرة التي تجذب الأكاروسات المفترسة التي تفترس الآفات . أحد مكونات الخليط المتطاير الذي ينبعث بواسطة الأكاروس *T. urticat* الذي يصيب أوراق نبات فول اللبنة هو المثيل ساليسيلات وهو مركب عطري متطاير شائع التواجد في قمة النباتات التي تصاب بآكلات الأوراق (جدول ٨-٣) . المثيل ساليسيلات لم يكشف عنه في نباتات فول اللبنة غير المعاملة أو المجروحة ميكانيكياً على عكس بعض المركبات المتطايرة الأخرى . بالإضافة إلى ذلك فإن الإصابة الكثيفة بالعنكبوت الأحمر (٤٠ / ورقة) تؤدي إلى انبعاث أكبر للمثيل ساليسيلات عما هو الحال مع الإصابة بمجموع صغير من الآفة (١٠ / ورقة) . لذلك فإن مستوى المثيل ساليسيلات المنفرد من فول اللبنة المصاب يبدو أنها ترتبط إيجابياً مع شدة هجوم الأكاروس بما يسمح للأكاروسات المفترسة بانتخاب النباتات التي تعول الأعداد الأكبر من المفترسات الخاصة بها .

المثيل ساليسيلات يجذب الأكاروسات المفترسة بطريق يتوقف على الجرعة ولكنه عند كميات غير عقلانية حيويًا (٢٠٠ ميكروجرام) يطرد الأكاروسات آكلات اللحوم . المفترسات المرباه على خيار مصاب بالأكاروسات والتي تبعث كميات ضئيلة للغاية (آثار) من المثيل ساليسيلات تختار نباتات فول اللبنة المصابة بالمفترسات أكثر من الخيار عندما تختبر في وحدة قياس الشم . إضافة المثيل ساليسيلات خارجياً إلى خليط الخيار يجعله جاذباً للأكاروسات آكلة اللحوم . بالإضافة إلى ذلك فإن هذا المركب المنفرد يقوم كمصدر بديل للرائحة في اختيار الاختيار المزدوج حيث أن تفضيل المفترسات للمخلوط المتطاير المحتوى على المثيل ساليسيلات من أوراق نباتات فول اللبنة المصابة بالأكاروسات *T. urticat* فقد مما أدى إلى الاقتراح بالدور الهام لهذا المركب المتطاير في سلوك السرح للأعداء الطبيعية لمفصليات آكلات النباتات (De , Boer et al. 2004) .

جدول (٨-٣) : المركبات العطرية المتطايرة التي تشترك في التداخلات ثلاثية التغذية .
المدخلات قسمت أولاً تبعاً لنوع المركب وبعد ذلك تبعاً لنوع النبات
ونوع الآفة وأنواع المفترس / أشباه الطفيليات وتاريخ النشر

Copound	Plant	Herbivore	Predator / Parasitoid	Reference
Methylsalicylate	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>Pieris rapae</i>	<i>Cotesia rubecula</i>	Van Poecke et al. (2001)
	<i>Cucumis sativus</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Takabayashi et al. (1994)
	<i>Gerbera jomesonii</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Gols et al. (1999)
	<i>Glycine max</i>	<i>Aphis glycines</i>	<i>Coccinella septempunctata</i>	Zhu and Park (2005)
	<i>Lotus japonica</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Ozawa et al. (2004)
	<i>Nicotiana attenuata</i>	<i>Monduca quinquemaculata</i>	<i>Geocoris pallens</i>	Kesster and Baldwin (2001)
	<i>Nicotiana attenuata</i>	<i>Dicyphus minimus</i>	<i>Geocoris pallens</i>	Kesster and Baldwin (2001 , 2004)
	<i>Nicotiana attenuata</i>	<i>Epitrix hertipennis</i>	<i>Geocoris pallens</i>	Kesster and Baldwin (2001)
	<i>Nicotiana attenuata</i>	<i>Manduca sexta</i>	<i>Geocoris pallens</i>	Kesster and Baldwin (2001)
	<i>Phaseolus lunatus</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	<i>Phytoseiulus perimilis</i>	Dicke et al. (1990 ,1999) Ta abayashi and Dicke (1996) De Bocet et al . (2004) and De Bor and Dicke

				(2004b)
تابع جدول (٨-٣) : المركبات العطرية المتطايرة التي تشترك في التداخلات ثلاثية التغذية . المدخلات قسمت أولا تبعا لنوع المركب وبعد ذلك تبعا لنوع النبات ونوع الآفة وأنواع المفترس / أشباه الطفيليات وتاريخ النشر				
Copound	Plant	Herbivore	Predator / Parasitoid	Reference
	<i>Phaseolus lunatus</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	<i>Amblyseius potentilloe</i>	Dicke et al. (1990)
	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Kant et al. (2004)
Indole	<i>Gerbera jamesonii</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Gols et al. (1999)
	<i>Phaseolus lunatus</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Gols et al. (1999)
	<i>Zea mays</i>	<i>Heliothis virescens</i>	<i>Cardiochiles nigriceps</i>	De Moraes et al. (1998)
	<i>Zea mays</i>	<i>Pseudaletia separate</i>	<i>Cotesia kariyai</i>	Takabayashi et al. (1995)
	<i>Zea mays</i>	<i>Spodoptera exigua</i>	<i>Cotesia marginiventris</i>	Turlings et al. (1990 , 1991 , 1993)
				Hoballah – Fritsche et al. (2002)
				De Alessandro et al. (2006) and Ton et al. (2007)
	<i>Zea mays</i>	<i>Spodoptera exigua</i>	<i>Microplitis croceipes</i>	Turling et al. (1993)
	<i>Zea mays</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	<i>Cotesia marginiventris</i>	Ton et al. (2007)
2-phenylethanol	<i>Glycine max</i>	<i>Ahis glycines</i>	<i>Chrysoperla camea</i>	Zhu and Park (2005)
تابع جدول (٨-٣) : المركبات العطرية المتطايرة التي تشترك في التداخلات ثلاثية التغذية . المدخلات قسمت أولا				

تبعاً لنوع المركب وبعد ذلك تبعاً لنوع النبات ونوع الآفة وأنواع المفترس / أشباه الطفيليات وتاريخ النشر				
Copound	Copound	Copound	Copound	Copound
	<i>Glycine max</i>	<i>Ahis glycines</i>	<i>Chrysoperla camea</i>	Zhu and Park (2005)
	<i>Solanum tuberosum</i>	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	<i>Perillus bioculotus</i>	Weissbecker et al (1999)
2-phenycoylactae	<i>Zea mys</i>	<i>Pseudaletia separata</i>	<i>Cotesia koriyai</i>	Takabayahi et al. (1995)
	<i>Zea mys</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	<i>Cotesia marginiventris</i>	Hoballah – Fritsche et al. (2002)
	<i>Zea mys</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	<i>Cotesia marginiventris</i>	Ton et al. (2007)
Benzyl acetate	<i>Zea mys</i>	<i>Pseudaletia separata</i>	<i>Cotesia kariyai</i>	Takabayahi et al. (1995)
	<i>Zea mys</i>	<i>Spodoptera littoralis</i>	<i>Cotesia marginiventris</i>	Hoballah – Fritsche et al. (2002)
Benzyl cyanide	<i>Phaseolus lunatus</i>	<i>Teranychus uticae</i>	<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Dicke et al. (1999)

من المثير للاهتمام أن نباتات فول اللبنة تفرد وتبعث وتحرر مخاليط متطايرة متميزة بمجرد إصابتها بالآفات المختلفة ومن ثم تسمح للأعداء الطبيعية بتجنب السرطان غير المجدي إذا كانت توجد الأنواع غير المفترسة فقط . عندما أصيبت نباتات فول اللبنة بواسطة أكل النبات المفترس *T. urticae* أو الدودة الخضراء غير المفترسة فإن الأكاروسات آكلة اللحوم *P. persimilis* تكون قادرة على تحديد موضع فريستها بواسطة الكشف عن الاختلافات في الخلطات المتطايرة التي تنبعث بواسطة النباتات استجابة لآكلات الأوراق . إضافة الميثيل ساليسيلات إلى الخليط المتطاير المنبعث بواسطة النباتات المصابة بالأنواع غير المفترسة قللت من مقدرة الأكاروسات المفترسة لتحقيق هذا التمييز مما أدى إلى الاقتراح بوجود دور خاص للميثيل ساليسيلات في هذا التداخل . لقد وجد وضع معاكس في نبات بقولي آخر *Medicago truncatula* حيث أتضح أن الأكاروس *T. urticae* المتغذي عليه فشل في تحفيز انبعاث الميثيل ساليسيلات بينما نجحت دودة

ورق القطن في هذا الدور مما أظهر الأدوار المرنة لهذا الاستر في دفاع النبات (Leitner et al. 2005).

بالإضافة إلى *P.lunatus* and *M.truncatula* فإن ما لا يقل عن ١٢ نوع نباتي آخر أظهرت انبعاث الميثيل ساليسيلات بمجرد حدوث تلف من مهاجمة آكلات النباتات حتى لو كانت عند مستويات مختلفة (جداول ٨-٢ ، ٨-٣). لقد وجد حدوث تحفيز قليل في انبعاث الميثيل ساليسيلات بعد هجوم آكلات النباتات في الخيار والجربارة حيث أن مستويات الميثيل ساليسيلات وجدت منخفضة بالمقارنة بالمركبات المتطايرة المنبعثة الأخرى (Golset et al. 1999). لقد تم الكشف عن مستويات عالية من الميثيل ساليسيلات مقارنة بإجمالي ٣٨ مركب تتبع من أوراق أرابيدوبسيس المصاب بيرقات أبي دقيق الكرب الأبيض وليست من النباتات التالفة صناعياً أو غير التالفة. الأرابيدوبسيس هو النبات الوحيد من الصليبيات أظهر أنه يبعث الميثيل ساليسيلات استجابة لهجوم آكل النبات مع جذب متتابع ليرقات شبيه الطفيل *Cotesia rubecula*. في التقييم الحيوي للاختبار المزدوج فإن *C.rubecula* تفضل المخاليط المتطايرة المحتوية على الميثيل ساليسيلات من نباتات الأرابيدوبسيس المصابة في مقابل المخاليط من النباتات التالفة صناعياً أو غير التالفة. من المثير للدهشة أن الديدان التي تحفز انبعاث الميثيل ساليسيلات وجدت مرتبطة مع وفرة النسخ المتزايدة ATPAL1 مما أدى إلى الاقتراح بأن التدفق خلال المسار تجاه هذا المركب الذي حفز بواسطة الإصابة بآكلات الأوراق في نباتات *N.attenuata* وجد أن مستوى الميثيل ساليسيلات ارتفع بشكل كبير في الخليط المتطاير المنبعث من النباتات التي هوجمت بواسطة ثلاثة أنواع سائدة من الآفات التي وجدت خلال التجارب الحقلية : ديدان

Manduca quinquemaculata (Lepidoptera, Sphingidae), the leaf bug *Dicyphus minimus* (Heteroptera, Miridae), and the flea beetle *Epitrix hirtipennis* (Coleoptera, Chrysomelidae; Kessler and Baldwin 2001, 2004), thus attracting the generalist predator *Geocoris pallens* (kessler and Baldwin 2004).

إصابة فول الصويا والطماطم و *Lotus japonicus* بالأكاروس الآكل للنبات *Turticae* تؤدي إلى انبعاث المخاليط المتطايرة التي تحتوي على الميثيل ساليسيلات والأكثر جذباً للأكاروس المفترس *P.persimilis* عن المواد المتطايرة من النباتات غير المصابة أو التي تلفت صناعياً. في نباتات فول الصويا ينبعث الميثيل ساليسيلات أيضاً بعد هجوم من فول الصويا وهو نوع المن الوحيد المعروف بتكوينه مستعمرات كبيرة على فول الصويا في أمريكا الشمالية. هذا هو المركب الوحيد المنبعث من النباتات المصابة بالمن والذي يظهر استجابة كبيرة لجهاز الكروماتوجرافي الغازي - الرسام الكهربائي لقرن

الاستشعار (GC-EAG) في خنافس أبي العيد وهو النوع المعروف عنه مهاجمة من فول الصويا في الحقل . في الاختبارات الحقلية أتضح أن المصائد المطعومة بالميثيل أظهرت جذباً كبيراً لأبى العيد ولم يحدث نفس الجذب للخنافس الأخرى *H.axyridis* مما أدى إلى الاقتراح بأن النوع الأول من هذا الاستر المتطاير كإشارة شمعية لوضع الافتراض ((Zhu and Park 2005).

إصابة اللوبيا وحشيشة الدينار بالأكاروس *Turticae* تؤدي كذلك إلى زيادة كبيرة أو لانبعاث جديد للميثيل ساليسيلات بينما في الأنواع الأخرى بما فيها الجراد الأسود والفلفل الحلو والتفاح الثورن والعنب فإن انبعاثاتها حفزت لدرجة قليلة . عندما اختبرت كفاءة الجذب للميثيل ساليسيلات في التجارب الحقلية أتضح أن بساتين العنب وحشيشة الدينار المطعومة بهذا الاستر المتطاير اصطادت أعداد كبيرة من الحشرات المفترسة بما فيها *nigricornis, Hemerobius sp. Deraeocoris brevis, Stethorus punctum picipes, and Orius tristicolor* عما هو الحال مع البساتين بدون كروت لاصقة أي غير مطعومة . بالإضافة إلى ذلك فإن زيادة الحشرات المفترسة في توافق مع الخفض الكبير في مجموع العناكب الحمراء وهي الآفة الكبرى في مفصليات الأرجل للريحان (James and Price 2004).

توضح هذه النتائج أن الميثيل ساليسيلات يمكن اعتباره كدليل عام عن الضرر الذي تحدثه آكلات النباتات في منظومة أن المواد المتطايرة الأخرى تتبع ذلك بعد الإصابة . من المدهش أنه في العديد من التداخلات ثلاثية التغذية التي وصفت أعلاه فإن المشترك من أكل النبات - والمفترس هي نفسها بينما النباتات التي تهاجم مختلفة وهي تبعث مخاليط متطايرة مختلفة باستثناء الميثيل ساليسيلات . تحليل المستقبلات الكيميائية من دبابير أشباه الطفيليات والأكاروسات المفترسة أظهر أن الحشرات قادرة على الكشف عن هذا المركب داخل الخليط المتطاير . هذا ولو أن الميثيل ساليسيلات لا ينبعث بواسطة جميع النباتات حيث يتناقص انبعاثه في أوراق الذرة بعد الإصابة بـ *pseudaletia separata* مما أدى إلى الاقتراح بعدم وجود أدوار للميثيل ساليسيلات في التداخلات ثلاثية التغذية المختارة .

الاندول مركب عطري آخر يوجد في الخليط المتطاير لبعض النباتات التي تلفت بواسطة آكلات الأوراق . ولو أن دور الاندول في التداخلات ثلاثية التغذية يعاني من نقص الدراسات المكثفة إلا أن الانبعاث المحفز للاندول استتباعاً لهجوم آكلات النبات معروفة جيداً وسجلت مع العديد من الأنواع النباتية بما فيها الذرة وفول اللبنا والفول السوداني . في الذرة أصبح الاندول مكون أساسي وكبير لطيف المواد المتطايرة التي تتبع بعد ساعات قليلة من التغذية بواسطة الدودة القارضة . التخليق الحيوي للاندول يحدث جديداً استجابة لتلف الحشرات . مستوى انبعاث الاندول يتأثر كذلك بواسطة طور

التطور لآكلات الأوراق كما أتضح خلال الإصابة بواسطة يرقات *P.separata* مما أدى إلى الاقتراح بأنه من المميزات الأكبر لجعل النبات يجذب أشباه الطفيليات بينما تكون يرقات الآفة مازالت صغيرة . من المثير للاهتمام التفاوت الوراثي العريض الذي وجد بالنظر إلى انبعاث الاندول المحفز بواسطة آكلات الأوراق من بين ٣١ من خطوط هجن الذرة والتي تتراوح من آثار إلى أكثر من ٧٠% الانبعاثات المتطايرة الكلية (Degen et al. 2009).

النظم ثلاثية التغذية الأكثر تواجداً ودراسه التي تتضمن الاندول تشمل نباتات الذرة والديدان القارضة والديابير المتطفلة من الجنس *Cotesia* . تحت نوع الكونتيسا *Kariyai* و *C.marginiventris* معروف عنها أنها تزود نباتات الذرة التي تفرد الاندول استجابة للتلّف بواسطة يرقات *P.separata* ويرقات الدودة القارضة *S.exigua* على التوالي . هذا ولو أن انبعاث الاندول وغيره من المركبات المتطايرة التي تحفز بواسطة آكلات الأوراق ليست دائماً متخصصة تبعاً لنوع الآفة . في الذرة فإن القيء من أنواع الديدان الخمسة المختلفة وكذلك نطاطات الأوراق تحفز نفس الحزمة والنسب النسبية للمركبات المتطايرة بما فيها الاندول ولكن بكميات كلية مختلفة مما يوضح أن هذه الإشارات عالية الكشف لا تعتبر دائماً إشارة جيدة تشير إلى وجود العائل للمفترسات السارحة وأشباه الطفيليات (Turlings et al. 1993) . من المدهش أن جذب *C.marginiventris* لم يتأثر بواسطة وجود أو غياب الاندول في الدراسات حيث نباتات الذرة المصابة بالديدان وتلك التي عوملت بالجليفوسات وهو مثبط *5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate* درست معاً. بالإضافة إلى ذلك فإنه يبدو أن الاندول طارد أكثر من جاذب لشبيه الطفيل *M.rufiventris* مما أدى إلى الاقتراح أن اثنان من أشباه الطفيليات ذوات البيولوجي المقارن قد يستخدم استراتيجيات مختلفة في استخدامها للإشارات الصادرة من النباتات لتحديد مواقع العوائل والاندول قد يلعب أدواراً مختلفة في الدفاعات المحفزة عبر مملكة النباتات والحشرات .

توافق وتزامن انبعاثات الاندول وشبيه الطفيل *C.marginiventris* سجل كذلك في نباتات القطن بعد التلّف بواسطة دودة ورق القطن أو الدودة القارضة . على غرار الموقف في الذرة فإن انبعاثات الاندول بعد هجوم آكلات النباتات أتضح أنه يختلف بشكل كبير بين أصناف القطن . هذا ولو أنه على عكس الذرة فإن انفراد الاندول من نباتات القطن تحدث فقط عند موضع التلّف الذي تحدثه الديدان ولا تحدث جهازياً . من المثير للدهشة أن الإصابة المترامنة لنباتات القطن والدودة القارضة والذبابة البيضاء أدت إلى خفض انبعاث الاندول مما يضعف من شدة الجذب بين أشباه الطفيليات وعوائلها .

عندما يهاجم نوعان من آكلات الأوراق نباتات فول اللبما فإن التغذية بواسطة الدودة القارضة فقط تحفز انبعاث الاندول ولم يحدث ذلك مع الأكاروس *T.urticae* (DeBoer

(et al. 2004) . حتى الإصابة بكثافة عالية من الأكاروسات تؤدي إلى انبعاث قليل فقط من الاندول بينما التغذية بواسطة أعداد متوسطة من يرقات الدودة القارضة (٢/ورقة) أدت إلى حدوث زيادة كبيرة في انفراد الاندول بالمقارنة بمجاميع المقارنة والأكاروس . لا التلف الميكانيكي الصناعي ولا الذي يحدث بواسطة قوقع *Ceyaea hortensis* سبب انفراد الاندول . من المثير للدهشة مسار حمض الجسمونيك - المرتبط بالتأثير فقط تشترك في إنتاج المواد المتطايرة المحفزة بالديدان في نباتات فول اللبنة بينما كلا مساري حامض الساليسيليك - والجسمونيك أسيد المرتبط بالتأثير تشترك في إنتاج المواد المتطايرة التي تحفز بالأكاروس *T.urticae* .

المواد العطرية المتطايرة بنزيل أسيتات ، بنزيل سيانيد ، ميثيل أنثرالينات تنفرد وتنتقل كذلك بعد هجوم أكالات الأوراق (جدول ٨-٣) . هذه المركبات تتبع من نباتات الذرة بعد الإصابة بالدودة القارضة باستثناء البنزيل سيانيد و ٢-فينيل إيثانول والتي تم الكشف عنها في نباتات فول اللبنة والبطاطس بعد التلف الذي تحدثه العنكبوت الأحمر وخنفساء البطاطس على التوالي . بالإضافة إلى ذلك فقد أضح أن ٢-فينيل إيثانول ينبعث حصرياً بعد التغذية بواسطة خنفساء البطاطس والتي يحقق استجابة عالية جداً في نظام GC - EAG من مفترس *P.bioculatus* لخنفساء البطاطس (Weissbecker et al. 1999) .

الانفراد بعد هجوم أكالات النباتات لغالبية المركبات العطرية عند مستويات منخفضة نسبياً أثارت التساؤل حول دورها في التداخلات بين النباتات ومفصليات الأرجل . سجلات GC - EAG أظهرت أن الكميات النسبية للمركبات داخل الخليط المتطاير لا ترتبط دائماً مع استجابتها لجهاز EAG مما يوضح أن المركبات الصغرى قد تسجل بعض الاستجابات الأقوى وأن الجاذبات الحشرية الفاتحة تظل واجبة التغذية .

٤- المواد المتطايرة والتداخلات نبات - نبات :

المواد المتطايرة التي تتبع من النباتات التي هوجمت بواسطة أكالات النباتات تعول كذلك التداخلات بين النبات والنبات وقد تحفز تعبير جينات الدفاع وانبعاث المواد المتطايرة في الأوراق السليمة لنفس النبات أو النباتات المجاورة وتلك التي لم تهاجم ومن ثم تزيد من انجذابها إلى أكالات اللحوم وخفض حساسيتها تجاه أكالات النباتات المدمرة (Dicke et al. 1990) . تعرض نباتات الذرة لمخلوط المواد المتطايرة المنبعث من الأقران المصابة بدودة ورق القطن تقلل من تغذية وتطور الديدان بينما تزيد بشكل كبير جاذبية النباتات التي تقود المواد المتطايرة للدبابير المتطفلة *C.marginiventris* مما يدعم دفاعاتها المباشرة وغير المباشرة (Ton et al. 2007) . هذا التأثير يرجع في جزء منه إلى الإنتاج المحفز للمركبات العطرية اندول و ٢-فينيل أسيتات في النباتات بعد

تعرضها للمواد المتطايرة المحفزة بالديدان . كذلك فإن نباتات فول اللبنة المجاورة أصبحت أكثر جذباً للأكاروسات المفترسة وأقل حساسية للأكاروسات الضارة عندما تتعرض للمواد المتطايرة التي تنبعث من الأوراق المجروحة صناعياً (Arimura et al. 2002) . الإصابة بالأكاروس Turticae يحفز التراكم المحفز لستة جينات دفاع مرتبطة في أوراق فول اللبنة بينما تعرض النباتات غير التالفة للمواد المتطايرة . من النباتات المصابة ينظم بشكل كبير مستويات النسخ لخمسة فقط من بين ستة جينات درست بما فيها PAL . معاملة النباتات غير التالفة بالميثيل ساليسيلات الغازية تكرر نظم تعبير الجينات الدفاعية الستة التي لوحظت في الأوراق المصابة بالعنكبوت Turticae مما يوضح الأهمية الكبرى لهذا المركب في التداخلات بين النبات والنبات .

بالإضافة إلى التحفيز المباشر للدفاعات فإن التعرض للمركبات المتطايرة من النباتات التي هوجمت بأكلات الأوراق قد تؤدي إلى تحفيز استجابات دفاعات النبات في النباتات المجاورة . التحضير بواسطة المواد المتطايرة تجهز النبات كي يستجيب سريعاً وبشدة ضد الهجوم اللاحق والمتتابع للحشرات آكلة النباتات . التحضير بواسطة المواد المتطايرة تقدم طرق مختلفة من الاستجابة لضرر الحشرة المهاجمة عبر التنشيط غير الكامل لعمليات الدفاع المرتبطة ومن ثم تخفض من الاستثمار تجاه الدفاعات للنباتات المستقبلية حتى حدوث الهجوم الفعلي . هذا بينما التحضير بواسطة المركبات العطرية قد يكون أحد الميكانيكيات المشتركة في التأثير نبات - نبات في الطبيعة فإن أدوار المواد المتطايرة العطرية في وتحت نطاق الميكانيكيات الجزيئية والارتباط الايكولوجي لهذه التداخلات الخاصة مازال في حاجة للدراسة .

٥ - اتجاهات المستقبل :

في الوقت الحالي يوجد قبول عريض بأن المركبات المتطايرة التي توجد في الهواء تلعب أدواراً هامة في دفاع النباتات هذا ولو أن مساهمة المواد العطرية لهذه العمليات مازال في حاجة لبحوث ودراسات مستقبلية . من أكثر الأسئلة إثارة والتي لم تجد الحل حتى الآن لماذا المواد المتطايرة العطرية تعاني من نقص التمثيل العريض الذي لوحظ مع التربينويدز في مخاليط المواد المتطايرة التي تحفز بأكلات الأوراق ؟ . مقدرة النباتات على تخليق طيف عريض من المركبات العطرية المتطايرة وفي الغالب على مستويات عالية أتضح وتؤكد في الأعضاء الزهرية (Verdonk et al. 2003) . هذا بينما في عدد محدود من الأنواع النباتية التي درست فإن المركبات العطرية المتطايرة لا تمثل جيداً بشكل مقارن في دفاعات النباتات . هذا التناقض سوف يوضح خلال بحث التداخلات بين النبات والحشرة التي تحدث في عدد كبير من النباتات . انبعاث مستويات منخفضة من المركبات العطرية قد يوضح كذلك أن أفعالها تنشيطية وقد تغرس مستوى من التخصصية

للإشارة في الهواء وهذه الإمكانيات في حاجة للتوضيح على المستويات الحسية وفي التجارب الحقلية .

أهمية المواد العطرية المتطايرة يجب ألا يغالى فيها بناء على تواجدها الدقيق حيث أن الحشرات عندها مقدرة مثيرة للدهشة في الكشف عن مستويات منخفضة من المركبات المتطايرة التي تحدث بعض الاستجابات الشديدة . لقد أجريت محاولات سابقة لتحديد تأثيرات المواد العطرية المتطايرة كل على حده على سلوك الحشرات عن طريق إضافة مركبات خارجية لمخاليط الرائحة الموجودة . التقدم الحديث في اكتشاف الجينات والهندسة التمثيلية جعلت من الممكن في الوقت الراهن المناورة بمستويات المواد المتطايرة في النباتات سواء في الانبعاث أو زيادة انبعاثها . ولو أن إسهامات بعض التربينويدز المتطايرة لبعض النباتات تأكدت عبر هذا الطريق فإنه في حاجة للاستخدام مع المركبات العطرية المتطايرة وتوضيح دورها المعلن سابقاً في التداخلات بين النبات والحشرة . من نواحي الاهتمام الخاصة كيف أن التدفق خلال مسار الشيكيمات الذي يقدم بادئات للمواد المتطايرة العطرية ينظم خلال دفاع النبات مع هدف تحديد ما إذا كانت الانبعاثات العالية للمواد المتطايرة سوف تحقق فوائد اللياقة ودفاع النبات أم لا . الكشف الحديث لعامل النسخ MYB والذي ينشط مسار الشيكيمات استجابة للجروح سوف يمكن من الإجابة على هذا التساؤل عبر هندسة التمثيل .

References

- Abd El-Mawla AMA, Schmidt W, Beerhues L (2001) Cinnamic acid is a precursor of benzoic acids in cell cultures of *Hypericum androsaemum* L. But not in cell cultures of *Centaurea erthraea* RAFN. *Planta* 212:288-293
- Arimura G, Ozawa R, Kugimiya S, Takabayashi J, Bohlmann J (2004) Herbivore-induced defense response in a model legume: two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae*, induce emission of (E)-B-ocimene and transcript accumulation of (E)-B-ocimene synthase in *Lotus japonicus*. *Plant Physiol* 135:1976-1983
- Beekwilder J, Alvarez-Huerta M, Neef E, Verstappen FWA, Bouwmeester HJ, Aharoni A (2004) Substrate usage by recombinant alcohol acyltransferases from various fruit species. *Plant Physiol* 135:1865-1878
- Chen Y, Xiangbo Z, Wei W, Chen Z, Gu H, Qu LJ (2006) Overexpression of the wounding responsive gene *AtMYB15* activates the shikimate pathway in *Arabidopsis*. *J Int Plant Biol* 48:1084-1095

- Engelberth J, Alborn HT, Schmelz EA, Tumlinson JH (2004) Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:1781-1785
- Farag MA, Fokar M, Abd H, Zhang H, Allen RD, Pare PW (2005) (Z)-3-Hexenol induces defense genes and downstream metabolites in maize. *Planta* 220:900-909
- Frence CJ, Vance CP, Towers GHN (1976) Conversion of p-coumaric acid to p-hydroxybenzoic acid by cell free extracts of potato tubers and *Polyporus hispidus*. *Phytochem* 15:564-566
- Gang DR, Lavid N, Zubieta C, Chen F, Beuerle T, Lewinshon E, Noel JP, Pichersky E (2002) Characterization of phenylpropene O-methyltransferases from sweet basil: facile change of substrate specificity and convergent evolution within a plant OMT family. *Plant Cell* 14:505-519
- Hardie J, Isaacs R, Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM (1994) Methyl salicylate and (-)-(IR,5S)-myrtenal are plant-derived repellents for black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. (Homoptera: Aphididae). *J Chem Ecol* 20:2847-2855
- James DG, Price TS (2004) Field – testing of methyl salicylate of recruitment and retention of beneficial in grapes and hose . *J Chem Ecol* 30 : 1613 – 1627
- Kent MR , Ament K, Sabelis MW , Haring MA , Schuurink PC (2004) Differential timing of spider mite – induced direct and indirect defenses in tomato plants . *Plant physiol* 135 : 483 – 495
- Leitner M , Boland W, Mithofer A (2005) Direct and indirect induced by piercing – sucking and chewing herbivores in *Medicago truncatula* . *New phytol* 167 : 597 – 606
- Mithofer A , Wamer G , Boland W (2005) Effects of feeding *Spodoptera littoralis* on lima bean leaves . II . Continuous mechanical wounding resembling insect feeding is sufficient to elicit herbivory – related volatile emission . *Plant physiol* 137 : 160 – 168
- Ngo SP, Choo LEW , Pang FY, Huang Y, Kini MR , Ho SH (1998) Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American cockroach . *periplaneta americana* (L.) *pestic Sci* 54 : 261 – 268
- Ozawa R, Shimoda T, Kawaguchi M, Arimura G, Horiuchi J , Nishioka T, Takabayashi J (2000) *Lotus japonicus* infested with herbivorous mites

emits volatile compounds that attract predatory mites , J plant Res 113 : 427 – 433

Pettersson J, Pickett JA , pye BJ , Quiroz A, Smart LE, Wadham LJ, Woodcock CM (1994) Winter host component reduces colonization by bird – cherry – oat aphid , *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera , Aphididae) , and other aphids in cereal fields . J Chem Ecol 20 : 2565 – 2574

Price PW , Bouton CE , Gross P, Mc pherson BA , Thompson JN , Weis AE (1980) Interactions among 3 trophic levels – influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies . Ann Rev Ecol System 11 : 41 – 65

Schmelz EA , Alborn HT , Banchio E, Tumlinson JH (2003) Quantitative between induced jasmonic acid levels and volatile emissions in *Zea mays* during *Spodoptera exigua* herbivory . Planta 216 : 665 – 673

Takabayashi J, Dicke MA (1996) plant – carnivore mutualism through herbivore – induced carnivore attractants . Trends plant Sci 1 : 109 – 113

Van Den Boom CEM , Van Beek TA , Posthumus MA , De Groot AE , Dicke MA (2004) Qualitative and quantitative variation among volatile profiles induced by *Tetanychus urticae* feeding on plants from various families , J Chem Ecol 30 : 69 – 89

Verdonk JC , De Vos CHR , Verhoeven HA , Haring MA , van Tunen AJ , Schuurink RC (2003) Regulation of floral scent production in petunia revealed by targeted metabolomics . phytochem 62 : 997 – 1008

Watanabe S , Hayashi K, Yagi K, Asai T, Mactavish H, Picone J, Turnball C , Watanabe N (2002) Biogenesis of 2- phenylethanol in rose flowers ; incorporation of [2H8] L- phenylalanine into 2- phenylethanol and its beta – D- glucopyranoside during the flower opening of *Rosa "Hoh – Jun"* and *Rosa damascena* , Mill Biosci Biotechnol Biochem 66 : 943 – 947

Zhu J, Park K (2005) Methyl salicylate , a soybean aphid – induced plant volatile attractive to the predator *Coccinella septempunctata* . J Chem Ecol 31 : 1733 - 1746

الباب التاسع

تنشيط الدفاعات النباتية من خلال إشارات سستيمينات والبيتيدات والبروتين كينيزيس والجسمونات المخلقة حيويًا

أولاً السستيمينات و Atp بيتيدات : الدفاع المرتبط بإشارات البيتيد

Systemins and Atpes : Defense – Related Peptide Signals

Javier Narvaez – Vasquez and Martha L. Orozco Cardenas

النباتات تتضمن عائلات مختلفة تطلق إشارات مرتبطة وظيفياً (الأحماض الأمينية من ١٥ - ٢٣) تعمل على تكبير استجابات الدفاع ضد الحشرة / أكل النباتات والمرضات التي تهاجم النباتات خلال تنشيط مسار تأثير الأوكتاديكانويدز . البيتيدات مشتقة من البروتينات البادئة الأكبر والتي تنفرد في الفراغ خارج الخلايا للتدخل مع المستقبلات الغشائية عن طريق ميكانيكيات عمليات غير معروفة . إلى جانب تشابهات التتابع النادرة فيما بين إشارات البيتيد المرتبطة بالدفاع فإن خصائصها الوظيفية مازالت تقترح بعض الأصول السلفية الشائعة لنظم تأثير بيتيدات الدفاع في النباتات والحيوانات .

J. Narvaez – Vasquez

Department of Botany and plant Sciences , University of California
Riverside , Riverside , CA 92521 , USA

e-mail : jnarvaez@ucr.edu

A. Schaller (ed.) , Induced plant Resistance to Herbicory , © Springer
Science + Business Media B.V. 2008

١- مقدمة

في العائلة الباذنجانية وهي عائلة هورمونات البيتيد المرتبطة بالدفاع التي يطلق عليها سستيمينات Systemins وهي تشترك في تنشيط جينات الدفاع استجابة للجروح بسبب هجوم أكلات النباتات (Rxan and Pearce 2003) . سستيمين الطماطم (Sys) عبارة عن أوليجوبيبتيد مكون من ١٨ حمض أميني يقع في طرفيات الكربون للبروتين البادئ السييتوسولي المكون من ٢٠٠ حامض أميني تسمى بروسيسستيمين (Srosys ... الشكل ٩-١ A .) . بمجرد حدوث الجروح يبدو أن Sys يجهز بواسطة التحلل البروتيني من Prosys وينفرد في أبوبلاست جدار الخلية حيث يتداخل السستيمين مع

مستقبل الغشاء لتنشيط تأشير الدفاع . بالإضافة إلى Sys فإن نباتات الطماطم تملك ثلاثة جليكوببتيدات غنية بالهيدروكسي برولين المرتبطة وظيفياً (تسمى , Tom Hyp Sys I , II, III) لعدد ١٥ - ٢٠ مخلفات تخلق من بادىء بولى بروتين منفرد لا علاقة له بمركب ProSys (الشكل ٩-١ C .) . بروتينات البادىء ProHypSys تخلق مع ببتيـد منفرد خلال مسار الإفراز ويتمركز موضعياً فى جدار الخلية .

حديثاً تم تعريف إشارة ببتيـدية مرتبطة بالدفاع محفزة بالجروح فى نباتات الأرابيدوبسيس (Huffaker et al , 2006a) . الببتيد ١- للأرابيدوبسيس المشتركة فى المناعة الأصلية والاستجابة ضد الممرضات مع Orthologs فى الأنواع من العديد من العائلات النباتية بما فيها العائلة الجنازية . على غرار Sys فإن الببتيدات المرتبطة مع AtPep 1 تخلق من بروتينات بادئة كبيرة تعاني من نقص التتابع الإشارى التقليدى .

تنشيط جينات الدفاع بواسطة السستيمينات و At Pep 1 تشمل الجينات التى تشفر بروتينات الخاصة البادئة والتى تعال بواسطة مسار تأشير اوكتاديكانويد (Huffaker et al . 2006) . فى هذا المسار ينطلق حمض لينولينيك من الأغشية الخلوية بواسطة فعل إنزيمات الفوسفوليبيزيس والتحول بواسطة سلاسل من التفاعلات الإنزيمية فى أوكسى ليبنزفيتودانويك أسيد (OPDA) وحمض الجسمونيك (JA) . هذه الأوكسى ليبينات محفزات قوية لتنشيط جين الدفاع . أظهرت دراسات الدليل الوراثى والموضعية ما أدى إلى الاقتراح بأن JA أو JA - الأوكسى ليبينات المشتقة تعمل وظيفياً كإشارات جهازية تشترك فى الاستجابة للجروح الجهازية ضد آكلات النباتات فى الطماطم (Wasternack 2005 , Howe 2005 , et al . 2006) والمقاومة الجهازية المكتسبة المحفزة بالمرض (SAR) فى نباتات الأرابيدوبسيس (Truman et al. 2007) .

الدليل المجمع أوضح أن النباتات فيها جهاز تأشير يعتمد على الببتيد والذى ينشط ويكبر تخليق إشارات أوكسى ليبين واسعة الانتشار فى النباتات للدفاع ضد هجوم الممرض وآكلات النباتات . هذا مرادف لتنشيط المناعة الأصلية واستجابات الدفاع ضد الالتهابات التى تعال بواسطة بولى ببتيـدسيتوكينينات فى الحيوانات خلال إنتاج إشارات ليبيد أيكوساتويد (Bergey et al. 1996) مما أدى إلى الاقتراح بأن إشارات الببتيد المرتبطة بالدفاع قد تنشأ من جين أصيل مشابه فى حقيقة النواة . الخصائص الوراثية والبيوكيميائية والوظيفية ونشوء إشارات الببتيد الخاصة بالدفاع فى النبات سوف تناقش لاحقاً .

A
1 NGTPSYDIKNKGDDMQEPPKVKLHHEKGGDEKEKIEKETPSQDINNKTISS
YVLRDDTQEIPK
66 MEHEEGGYVKEKIVEKETISQYIIEGDDDAQEKLKVEYEEEEYEKEKIVEK
ETPSQDINNKG
131 DAEKPKVEHEEGDDKETPSQDIKMEGEGALEITKVVCEKIIVQSKPPSKRDP

	PKMQTD
197	NNKL
B	
1	MRVLFLIYLILSPFGAEARTLLENHEGLNVGSGYGRGANLPPPSKEVSPTRTD
	E
66	KTSENTELVMTTIAQGENINOLFSFPTSADNYYQLASFKKLFISYLIPVSYVW
	NLIGSSPDHDL
131	VDIFDSKSDERYWNRKPLSPSPKPADGQRPLHSY
C	
1	MISFFRAFFLIHISFLIFVGAQARTLLGNYHDDDEMLIELKLESGNYGRTPYKTP
	PPTSSSPTHQ
67	EIVNGRHDVLPSPKTDPIIGQLTTITTTTPHHDDTVAAPPVGGGRHDYVASP
	PPKPQDEQROH
133	ITSSSSTLPLOQASY
D	
1	MEKSKRRSEESHLWIPLQCLDQTLRAILKCLGLFHQDSPTTSSPGTSKQPKEE
	KEDVTME
61	KEEVVVTSRATKVKAKQRGKEKVSSGRPGQHN

شكل (٩-١) : تتبع منشأ تتابعات الحمض الأميني لبادئات الببتيدات المرتبطة بالدفاع في النباتات . (A) بروتين بادئ سيستيمين الطماطم والبروسيستيمين (٢٠٠ فضالة) . تتابع سيستيمين (١٨ فضالة) عند طرفيات الكربون موضحة بحروف كبيرة وخطوط تحتية . خمسة تكرارات غير كاملة (خطوط تحتية) أدت إلى الاقتراح بأن جين Pro sys نتجت من تضاعف الجين وحدوث الإطالة . (B - C) (B ١٦٥ فضالة) والطماطم (C - ١٤٦ فضالة) هيدروكسي بروتين - بادئات البولي بروتين الغنى بالسيستيمين . التتابعات المقابلة للببتيدات النشطة حيويًا (١٥ - ٢٠ فضالة) موضحة بحروف كبيرة وخطوط تحتية . تتابع الببتيد المؤشر المزعومة في كلا البادئات موضحة بحروف لاتينية . التتابع القصير المحفوظ على نهايات النتروجين موضح تحت خطى كذلك . (D) بروتين بادئ بيتين الأرابيدوبسيس (AtPep 1) (٩٢ فضالة) . تتابع AtPep (٢٣ فضالة) موضح كذلك بحروف كبيرة وخطوط تحتية .

٢- سيستيمين الطماطم (Sys) Tomato Systemin

Sys هي أول ببتيد إشاري خارج الخلايا اكتشف في النباتات (Pearce et al. 1991) ومن أفضل الإشارات التي درست . Sys تشترك في تنشيط أكثر من ٢٠ جين يحفز بالجروح من العائلة الجنازية وتشترك في العديد من الخصائص مع هورمونات الببتيد في الحيوانات والخميرة (Harris 1989) . بداية فإن Sys يخلق كبروتين بادئ أكبر مما أدى إلى الاقتراح بأنه ينفرد بواسطة انقسام بتحلل البروتين (الشكل ٩ - ١ A). ثانياً فإن Sys فعال عند تركيزات منخفضة جداً . في التقييم الحيوى للنبات فإن

كميات فيمتومول من Sys عندما أضيفت لنباتات الطماطم الصغيرة المفصولة خلال سيقان القطع أحدثت أو جعلت الأوراق تراكم بروتينات مثبطات البروتينيز الخاصة بالدفاع (PIs) خلال ٢٤ ساعة بالإضافة إلى ذلك فإن تركيزات تحت النانومولر لمزارع معلق الخلايا لنباتات *Lycopersicon perurianum* والمعروفة باستجابة الأكللة . ثالثاً فإن فعل Sys يعال بواسطة تداخله مع مستقبل الغشاء عند سطح الخلية مما يوضح أن Sys يجب أن ينفرد في الفراغ الخلوي الخارجى لإحداث نشاطه الحيوى .

٢-١- جين السيستيمين الأولى والبروتين The ProSys gene and protein

جينوم الطماطم يملك نسخة مفردة من جين السيستيمين الأولى بالإضافة إلى Sys الواقع على الأطراف الكربونية توجد خمسة تكرارات غير كاملة لوظيفة غير معروفة في ProSys مما يوضح أن جين ProSys ينتج من دورات عديدة من تضاعف الجين والحوادث الممتدة . سلاسل ProSys وجدت في أنواع من تحت قبيلة العائلة الجنازية بما فيها الطماطم والبطاطس والفلفل وظل الليل ولم يوجد في الدخان أو الأرابيدوبسيس . تحليل أزواج تتابع الأحماض الأمينية لسلاسل ProSys توضح أنه يوجد درجة عالية من التحفظ فيما بينها (٧٣ - ٨٨% تطابق) . Sys المخلق من جميع أنواع العائلة الجنازية التى درست قادرة على تحفيز PIs الدفاعية فى تجارب التقييم الحيوى لنباتات الطماطم (Constabel et al., 1998) .

جين ProSys تحت التنظيم المتخصص للنوع نسيج / خلية والتطور والبيئة (Ryan and pearce 1998) . لقد وجدت مستويات تركيبية منخفضة لـ Prosps mRNA داخل الخلايا البرانشيمية اللحائية الوعائية (PP) فى الأوراق والتبيلات والسوق ولم توجد فى الجذور . كذلك فإن Pro Sys ينظم تطورياً كذلك فى جميع الأعضاء الزهرية حيث تتراكم مستويات عالية من ProSys mRNA والبروتين . بالإضافة إلى ذلك فإن تعبير جين ProSys تحت تنظيم فائق فى الأعضاء الخضرية الهوائية بواسطة الجروح الميكانيكية والحشرات القارضة وحمض الجسمونيك JA واستر الميثيل للحمض (MeJA) والأوليغو سكريات المشتقة من النبات والممرض وغيرها من محفزات الممرض .

ProSys لا يشكل تتابع إشارى متنبأ به ، أسس غشاء ناقل أو تحورات بعد النسخ تعتمد على ER / Golgi مما أدى إلى الاقتراح بأن باديء Sys يخلق على ريبوسومات حرة فى السيتوبلازم (Mc Gurl et al. 1992) . مكون الحمض الأمينى للسيستيمين الأولى Pro Sys (الشكل ٩-١ A) يتميز بوفرة الأحماض الأمينية (٢٧,٥ %) وكذلك عدد كبير من فضالة Lys الأساسية (١٥ %) . ProSys تحتوى على خيوط من Lys

البديل (K) وفضلات (E) Glu تطابق ما يعرف بالباعات KEKE (Realini et al. 1994) . لقد اتضح أن محفزات أو باعات مشابهة تشترك في التداخلات بروتين - بروتين خلال تكوين الزمام المنزلق القطبي Polar zippers (Zhang et al. 1997) .

٢-٢- تجهيز ProSys

السيستمين Sys عبارة عن ببتيد داخلي يجب أن يتحرر أو ينفرد ومن بادىء البروتين الخاص به بواسطة انقسام تحلل بروتيني بواسطة الببتيديز المجهز في تشابه مع هورمونات الببتيد الأخرى في حقيقة النواة . مواقع التجهيز والإنزيم أو الإنزيمات المسئولة التي تكسر السيستمين Sys من Pro Sys غير معروفة في الوقت الراهن . على عكس معظم بادئات الهورمون الأولى في الحيوانات والخميرة فإن Pro Sys لا يخلق خلال مسار الإفراز .

Pro Sys لا يملك مواقع ثنائية القاعدة Dibasic تقليدية للتجهيز بواسطة سبتيليزين / هيكسين وإنزيمات تحول الهورمون الأولى (PCs) Prohomon convertases فيما عدا تتابع KR ثنائي القاعدة في منتصف Sys (الشكل ١-٩ A والجدول ١-٩) . البروتيز المرتبط مع Sys في الأغشية الخلوية للطماطم والتي تقارب الفيورين في عائلة PC قد تقسم أو تكسر Sys عند هذا الموقع . البروتيز قد يشترك في دوران Sys حيث أن نواتج تحلل البروتين ذات أنشطة بيولوجية منخفضة . بالتعبية فإن إحلال هذه المتبقيات القاعدية مع الأحماض الأمينية المحورة كيميائياً تزيد من نصف فترة الحياة ونشاط Sys المحور .

جدول (١-٩) : مقارنة التتابع وتحويلات ما بعد النسخ والترجمة للببتيدات المرتبطة بدفاع النبات . برولين (P) ، هيدروكسي برولين (O) ، ثريونين (T) (وسيرين (S) كمتبقيات موضحة بحروف كبيرة .

Peptide1	Sequence	Pentose units
Sys	AVQSKPPSKRDPPKMQTD	0
TomHypSysII	RTPYKTOOOOTSSSPHQ	8 – 17
TomHypSys II	GRHDYVASOOOOKPQDEQRQ	12 – 16
TomHypSys III	GRHDSVLOOOSOKTD	10
TobHypSys I	RGANLPOOSOASSOOSKE	9
TomHypSys II	NRKPLSOOSOKPADGQRP	6
AtPep 1	ATKVKAKQRGKEKVSSGRPGQHN	0

¹Sys , tomato systemin ; TomHpSys , tomato hydroxyproline – rich glycopeptides I , II and III ; TobHypSys , tobacco hydroxyproline – rich glycopeptides I and II AtPep I , Arabidopsis peptide 1

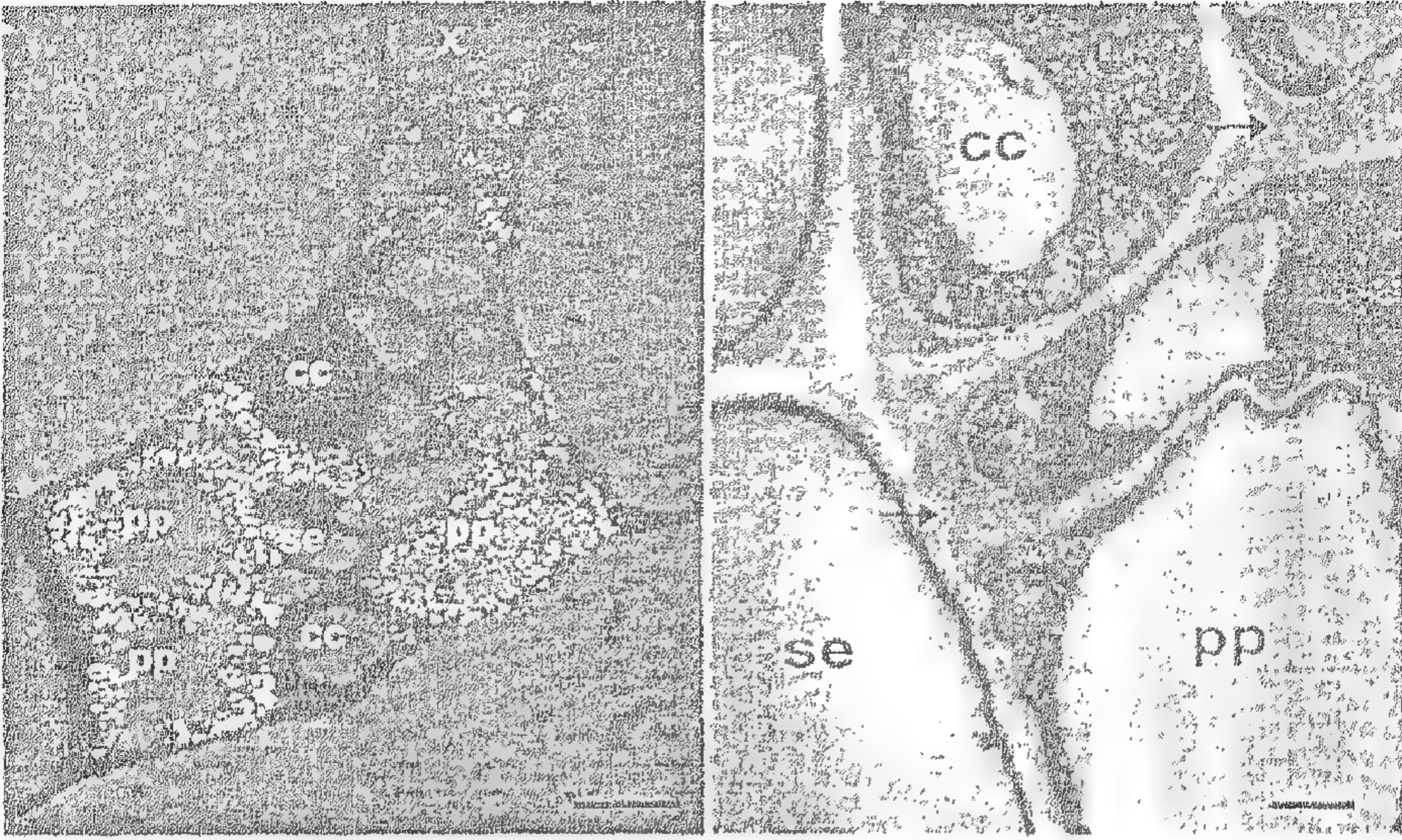
ProSys غنى كذلك فى أزواج الأحماض الأمينية الحمضية (E / D – E / D) الشكل ٩-١) . فى الحقيقة فإن تتابع Sys يكشف بواسطة فضالات Asp عند كلا نهايات النتروجين والكربون الطرفية . من المثير للدهشة أن الأزواج الحمضية من الأحماض الأمينية توجد كذلك فى بادئات البروتين فى الأرابيدوبسيس عند ببتيديات AtPep (الشكل ٩-١ D) . الأندو بروتينيز النباتية مع التخصص مع فضالات Asp P1 سجلت والببتيديزيس العديدة معروف أنها تحفز بواسطة الجروح . لقد لوحظ أن إنزيم تجهيز بروتين البادئ الأقل إشارية للسيتوكسين انترليوكين – 1 B (IL – 1B) سبب الالتهابات القوية فى الخلايا الحيوانية ما هو إلا بروتينيز Cys مشابه للكبيس التى تتطلب وسائط مع Asp المجاورة والنتروجين الطرفى لرابطة ببتيدي سكيل (فضالات P1) . لذلك من المغرى القول بأن بادئ ProSys يجهز بواسطة البروتينيز الذى ينكسر عند جانب CoOH لحمض (P1) Asp مفرداً نتروجين طرفى يمد ببتيديات Sys والتى تشذب بواسطة الأمينو ببتيديازيس فى السيتوسول (Walling 2006) .

إمكانية أن ProSys يفرز فى الأبوبلاست وما يستتبع ذلك من تجهيزه بواسطة إنزيمات البروتينيز خارج الخلايا درست (Dombrowski et al. 1999) . ProSys المندمج تم تحضيره مع سوائى غسيل الأبوبلاست لأوراق الطماطم وبيئة مزرعة خلايا L.peruvianum . لقد تم تحليل تكامل ProSys على أوقات مختلفة بواسطة SDS – PAGE وشطب البروتين باستخدام الأجسام المضادة Anty Sys . لا يوجد دليل عن إنزيمات تجهيز ProSys فى الأبوبلاست أو البيئة .

الدليل على أن ProSys يخلق ويجهز فى خلايا PP جاءت من الدراسات المباشرة للمناعة الكيميائية الخلوية باستخدام قابلية ومقدرة الأجسام المضادة المنقاة ضد الطول الكامل للسيستيمين الأولى ProSys و Sys و A proSys (ProSys الذى يفقر لتتابع السيستيمين) . أظهرت هذه الدراسات أن ProSys يقع فى السيتوسول وأنوية خلايا PP فى الأوراق والتبلات والسوق والأعضاء الزهرية للطماطم والبطاطس . كمية المركب المعلم إشعاعياً زادت بشكل كبير فى الأوراق بمجرد حدوث الجروح أو المعاملة بالمثل جسمونات MeJA فى نباتات الطماطم (الشكل ٩-٢ A) . نظام موضعية النواة – السيتوبلازمية لوحظ كذلك فى جميع أنواع الخلايا فى قطاعات الورقة من نباتات الطماطم المهندسة وراثياً والتى تعبر بشكل فائق عن جين ProSys (Narva .z-vasquea and Ryan 2004) .

الدليل غير المباشر عن عملية التحلل البروتيني فيما بين الخلايا لمركب ProSys جاء من دراسة حديثة وفيها جين الكيميرك الذي يشفر بروتين ProSys المحور والمحتوى على تتابع ديكاببتيد لتربيين البعوض - نمذجة عامل oostatic (TMOF) في مكان Sys تم التعبير عنه في نباتات الدخان المهندسة وراثياً . جين proSys - TMOF الكيميريك تم نسخ وترجمته في البروتين المحور داخل النسيج المهندس وراثياً وتم الكشف عن ديكاببتيد TMOF بواسطة HPLC وسبكترومترى الكتلة للرش الكهربى (HLPC / ESI - MS) في المستخلصات من نسيج الدخان المهندس وراثياً والبروتوبلاست وليس في المستخلصات من نباتات المقارنة البرية . لقد تم الكشف عن آثار من ببتيد TMOF فقط في البيئة المحضنة من البروتوبلاست مما يوضح أن معظم أن لم يكن كل الببتيد الغريب موجود في قطاعات داخل بروتوبلاست الخلية وكان يفرز في البيئة الخارجية (Tortiglione et al . 2003) . لم يثبت وجود جين ProSys في الدخان مما أدى إلى الاقتراح بأن ProSys يخلق ويجهز و / أو يخزن فيما بين خلايا أوراق الدخان ومن المحتمل أن يكون في طراز مشابه لما يوجد في الطماطم .

لقد أجرى فحص غربلة وراثية في الطماطم لمعرفة مسار التأثير الطفرى في Sys . لقد أسفرت هذه المجهودات عن تعريف طفرات عديدة غير قادرة على الاستجابة لمركب Sys والجروح أو حمض الجسمونيك JA . ولو أن الطفرات التي تؤثر على تجهيز ProSys لم تعرف بعد فشل اختبارات الغربلة لتعريف الجينات المطلوبة للتجهيز والقطاعية و/أو تقل ProSys أو Sys أدت إلى الاقتراح بأن مسار تجهيز ProSys تتضمن جينات قد تكون وفيرة أو مطلوبة لحيوية الخلية / النبات .



Immuno-cytochemical localization of ProSys and ProHypSys in vascular bundles of tomato leaves. Leaf samples from two-week-old tomato plants exposed for 18 hours to methyl jasmonate vapors were fixed and immuno-gold labeled as previously described (Narváez-Vásquez and Ryan 2004). (A) Silver-enhanced, immuno-gold labeled ProSys localized in vascular phloem parenchyma (PP) cells visualized under the confocal microscope. (B) Transmission electron micrograph showing immuno-gold labeled ProHypSys in the cell walls of PP cells (Narváez-Vásquez et al. 2005). Arrows point to gold particles. pp, phloem parenchyma; cc, companion cell; se, sieve elements; x, xylem vessel. Bars = A, 5.0 μ m; B, 0.5 μ m

شكل (٩-٢) : موضعية المناعة الخلوية الكيميائية لمركب Pro Sys و Pro Hp Sys في الحزم الوعائية في أوراق الطماطم . عينات الأوراق من نباتات الطماطم بعمر أسبوعين المعرضة لمدة ١٨ ساعة لأبخرة الميثيل جسمونات و تم تثبيتها و تم تعليم المناعة بالذهب كما ذكر سابقاً . (A) التحفيز بالفضة و Pro Sys المعلم إشعاعياً بالذهب - المناعة في خلايا (pp) البرانشيمية الموجودة في اللحاء الوعائي المرئية تحت الميكروسكوب متحد البؤر . (B) رسم بالميكروسكوب الإلكتروني الماسح يوضح Pro Hp Sys المعلم بالذهب في المناعة في جدر الخلايا لخلايا pp . الأسهم تشير إلى جسيمات الذهب . pp برانشيمية اللحاء ، cc الخلايا المصاحبة ، se عناصر الغربلة ، x أوعية الخشب . الخطوط = A = ٥ ميكرومتر ، B = ٠,٥ ميكرومتر .

٢-٣-٢- مسار تأثير Sys : بروتين مستقبل Sys وهو SR160 تم عزله وكلونة الجين الخاص به SR160 ينتمي لعائلة كيفينيزيس مستقبل Ser/Thr مع تكرارات غنية بالليوسين Leu خارج الخلايا والذي وجد كثير الشبه بمستقبل براسينوليد BR11 في الأرابيدوسيس (Scheer and Ryan 2002) . البراسينوليدات Brassinolides عبارة

عن قسم من هورمونات ستيرويد النباتات مع أدوار مختلفة في تطور النبات وليس في دفاعات النبات . عزل مستقبل براسينوليد الطماطم أكد أنه هو مستقبل Sys كذلك . وظيفة SR160 كمستقبل للسيستيمين تأكد بواسطة تعبير DNA , SR160 في نباتات الدخان . نباتات الدخان تعاني من نقص جين Sys Pro والإدراك الحسي للسيستيمين Sys . في نباتات الدخان المهندسة وراثياً يتم التعبير عن SR-160m RNA تكوينياً كما أن مستقبل الـ Sys هو موجود في الغشاء حيث ارتباط Sys والتنشيط المبكر لاستجابات الدفاع . هذا هو المثال الأول لمستقبل البروتين في النباتات الذي له وظيفة مزدوجة في الدفاع والتطور .

إحلال الألانين Ala وتحليل حذف بولي بيتيد Sys أظهر أن الأحماض الأمينية الثامنة عشرة ضرورية لتحقيق النشاط البيولوجي الكامل وأن منطقة النيتروجين الطرفية هامة في التمييز / الارتباط على مستقبل Sys بينما متبقيات الكربون الطرفية أكثر ضرورة لتحقيق النشاط (Pearce et al. 1993) بمجرد الارتباط على المستقبل الخاص به فإن Sys ينشط شلال معقد من حوادث التأثير مما يؤدي إلى تنشيط مبكر (مرتبط بالإشارات) ومتأخر (مرتبط بالدفاع) للجينات استجابة للجروح وإنتاج فوق أكسيد الأيدروجين (H_2O_2) (Ryan 2000) . في أوراق الطماطم فإن Sys يسبب استقطاب سريع (خلال دقائق) لغشاء البلازما في خلايا الميزوفيل وقلوية الوسط خارج الخلية أو أبولاست جدار الخلية وزيادة الانتقالية في تركيزات الكالسيوم Ca^{+2} الحر السيتوبلازمي وتنشيط الميتوجين - كينيز البروتين المنشط (MAPK) وانفراد حامض لينولينيك (حمض أميني ١٨ : ٣) من أغشية الخلايا بواسطة تنشيط الفوسفوليبيز A_2 مما أدى إلى التخليق الحيوي لمركب OPDA وحمض الجسمونيك خلال مسار أوكتاديمانويد (Ryan 2000).

٢-٤ - السيستيمين وإشارة الجرح الجهازية : استجابة الدفاع ضد جروح النبات التي تحدث من جراء هجوم الحشرات أو آكلات النباتات اكتشفت بواسطة الباحثان (Green and Ryan 1972) وتميزت بترام كيميائيات الدفاع ليس عند موضع التلف فقط (الاستجابة الموضعية) ولكن عند الأجزاء غير التالفة من النبات كذلك (استجابة جهازية) . هذا يوضح أن إشارة أو إشارات الجرح تنشأ عند مواضع التلف لتنشيط نسخ جينات الدفاع وتخليق المركبات مضادات التغذية خلال النبات .

Sys له خصائص إشارة الجرح الجهازية . عندما وضع Sys المعلم إشعاعياً في الجروح التي عملت على الأوراق فإن Sys تحمل في اللحاء وتنقل جهازياً خلال النباتات في خلال ساعات قليلة بمسار مشابه لما يحدث في انتقال السكرور المعلم بالكربون ١٤ . بالإضافة إلى ذلك فإن التعبير الفائق للجين البادئ Pro Sys تحت تنظيم المحفز GaMV35S في نباتات الطماطم المهندسة وراثياً أدت إلى التراكم التكويني لمستويات

عالية من بروتينات الدفاع العديدة في الأوراق . التعبير الفائق لمركب Pro Sys في النباتات تنتج إشارة قابلة للنقل تنشط جينات الدفاع في الطعم البري . على العكس فإنه عندما عبر عن Pro Sys : 35S المتحول جينياً في توجيه مضاد للحس في نباتات الطماطم المهندسة وراثياً حدث خفض شديد في التنشيط الجهازي لجينات الدفاع المحفزة بالجروح وأصبحت النباتات أكثر حساسية للتلف بالحشرات . لذلك فإن نتيجة التراكم تعضد فرضية أن Sys مكون هام في الإشارة الجهازية المتحركة .

الدليل الوراثي الحديث أظهر أن حامض الجسمونيك JA أو الأوكسي ليبين المشتق لحمض الجسمونيك يعمل كإشارة جهازية للجروح وأن الدور الأساسي لمركب Sys يتمثل في التنظيم الفائق للتخليق الحيوي لحمض الجسمونيك (Howe 2005) . لقد ظهر ذلك باستخدام تجارب تطعيم متعكسة مع طفرات الطماطم التي تعاني من نقص التخليق الحيوي لحمض الجسمونيك وإدراك JA التي تعاني كذلك من نقص التأثير الجهازي بالجروح . لذلك تأكد أن العديد من إنزيمات مسار الأوكتاديكانويد توجد موضعياً داخل خلايا الحزمة الوعائية لأوراق الطماطم التي تتضمن LOX , AOS , AOC . AOC الطماطم هو إنزيم محدود المعدل المطلوب للتخليق الحيوي لحمض الجسمونيك المحفز بالجروح خلال تأثير Sys . لذلك فإن تخليق Sys و JA يرتبط بالحاء . تجارب التطعيم والموضعية أظهرت دور جديد لكلا Sys و JA في تكبير عملية التأثير الجهازي حيث تنتقل خلال الأوعية النباتية .

٣- جليكوبيبتيدات السيستيمين الغنية بالهيدروكسي برولين HYP Sys :

البحث عن الحزمة الوظيفية للسيستيمين Sys في الدخان باستخدام التقييم بالأكلية (Felix and Boller 1995) أدى إلى تعريف اثنان من ١٨ a-a جليكوبيبتيدات ذات فاعلية حيوية في فصلات HPLC المنقى المتحصل عليها من مستخلصات أوراق الدخان . الببتيدات المعزولة (تسمى Top Hyp Sys I & II) وجدت قادرة على تحفيز الكليية الوسط في مزارع معلقات خلايا الطماطم وكذلك تنشيط كينيز 48-KDA MAP وتعبير جين الدفاع عندما وضعت مع أوراق الطماطم المقطعة عند تركيزات ناثول مولر nM .

Top Hyp Sys I and II عبارة عن جليكوبيبتيدات غنية في الهيدروكسي برولين وهي مزودة بتسعة وستة وحدات نبتوز على التوالي (جدول ٩-١) . شقوق الجليكوسيل مطلوبة لتحقيق الفعل أو النشاط البيولوجي الكامل . Top Hyp Sys I and II مشتقة من بادئ منفرد من البولي بروتين ذات ١٦٠ من الأحماض الأمينية التي لها إشارة ببتيدي تمثل المثال الأول . ببتيديات التأثير المتعددة المشتقة من نفس بادئ البروتين وهي صفة شائعة وجدت في الحيوانات (Tanaka 2003) .

لقد تم تنقية ثلاثة جليكوبيبتيدات Hyp Sys من أوراق الطماطم باستخدام طريقة التحليل الالكالينية نفسها مع معلق مزارع خلايا *L.peruvianuro* على التوالي . Hyp Sys الطماطم I , II , III لمبتقيات ٢٠ ، ١٨ ، ١٥ على التوالي مشتقة كذلك من بروتين بادئ منفرد ذات ١٤٦ من الأحماض الأمينية والذي يفرز بواسطة ببتيد إشاري متبأ به (الشكل ٩-١-٢). جليكوبيبتيدات الطماطم تملك وحدات بنتوز ما بين ٨ ، ١٦ والتي تبدو كبقايا أرابينوز مرتبطة مع بقايا هيدروكسي - برولين (جدول ٩-١) . تتابعات الحمض الأميني في ببتيدات Top Hyp Sys II , I متشابهة جداً مع تسعة أحماض أمينية متطابقة مما أدى إلى الاقتراح بأنها تنتج من تضاعف جيني وحوادث إطالة على غرار Pro Sys.

وجود الببتيد الإشاري في كلا الدخان والطماطم في بادئات Hyp Sys والهيدروكسلة المترجمة اللاحقة للبرولين والجليكوسيلامثين توضح أن بادئات الببتيد الفعالة حيويًا تخلق خلال مسار الإفراز . الدراسات الخاصة بموضعية المناعة باستخدام الأجسام المضادة المنقاة والتي تميز epitopes فقط في بادئ Pro Hyp Sys للطماطم أوضحت أن البروتين الأولي يوجد موضعياً في جدر خلايا الطماطم في الخلايا البرانشيمية الوعائية في الورقة (الشكل ٩-٢-٢) (Narvaez Vasquez et al. 2005).

إشارات الجليكوبيبتيد متعددة Hyp Sys المشتقة من بادئات البروتين الإشاري وجدت كذلك في أنواع أخرى من العائلة الخبازية بما فيها البيتونيا وظل الليل والبطاطس . في كلا الطماطم والدخان وجد أن جينات Pro Hyp Sys تنظم بدرجة فائقة في الأوراق عندما تجرح بواسطة Sys و MeJA وببتيدات Hyp Sys نفسها . جين Pro Hyp Sys الدخان يحفز كذلك بواسطة ABA والحشرات القارضة وتلك التي تتغذى على اللحاء . في الطماطم وجدت مستويات تكوينية منخفضة من Hyp Sys mRNAs في الأوراق ولكن المستويات القاعدية وجدت عالية في الأعضاء الأخرى بما فيها الجذور . التعبير الفائق للجينات الأصلية Hyp Sys في الدخان والطماطم سبب تنظيم كبير تركيب في كلا الجينات المرتبطة بالإشارات والدفاع في النباتات المهندسة وراثياً على غرار الجروح والسستيمين في الطماطم . نباتات الدخان المتحولة وراثياً Si Hyp Sys 35 كانت أكثر مقاومة لهجوم الحشرات . بالإضافة إلى ذلك فإن التنظيم المتدني لتعبير جين Tom Hyp Sys بواسطة التكنولوجيا مضادة الحس قللت كذلك من التحفيز الجهازى بالجروح لجينات الدفاع مما أدى إلى الاقتراح بأن Sys و Hyp Sys يعملان بالمشاركة للتنظيم الفائق لاستجابة الدفاع الجهازية بالجروح في الطماطم .

حوادث التجهيز المسؤولة عن انفراد ببتيدات Hyp Sys في جدار الخلية استجابة للجروح مازالت غير معروفة . وجود تتابع N/GR عند نهايات النتروجين الطرفية لببتيدات Hyp Sys في الدخان والطماطم أدت إلى الاقتراح بأن هذه الأحماض الأمينية قد

تعمل كوسائط لإنزيمات بروتينيز خاصة في كلا النوعين (جدول ٩-١) . الجروح قد تسبب خلط البروتينيز داخل الخلايا مع بادئ ببتيدات Sys في مادة جدار الخلية استتباعاً لتلف الخلية . الجروح أو التدفقات الأيونية المحفزة للسستيمين والتغيرات في درجة الحموضة في خلايا الورقة قد تحفز الإفراز و/أو تنشيط إنزيمات التجهيز في المادة خارج الخلايا . كبديل فإن الببتيديزيس المشتقة من المرض قد تشترك في تجهيز الببتيدات الفعالة حيويًا مما يؤدي إلى تنشيط تدفق إشارات الدفاع في أي حادثة فإن الانفراد من تحلل البروتين لإشارات الببتيد العديدة من بادئات البولي بروتين التي تقع في جدر الخلايا قد تكون من بين الحوادث النباتية المبكرة استجابة لهجوم الحشرات ومسببات الأمراض النباتية.

٤- الببتيدات المرتبطة بالدفاع في الأرابيدوسيس (AtPeps) :

AtPep 1 هو أول ببتيد داخلي مرتبط بالدفاع تم تنقيته من أوراق نباتات أرابيدوسيس ثاليانا . ببتيد AtPep 1 يحتوي على ٢٣ حمض أميني ويشترك من الكربوكسي الطرفية لإشارة بادئ البروتين أقل من ٩٢ حمض أميني (الشكل ٩-١-D Pro AtPep 1) . AtPep 1 ينظم تعبير جينات الدفاع التي تحفز بواسطة الممرضات خلال مسار تأثير الأوكثاديكانويد . الجين الذي يشفر Pro AtPep 1 جزء من عائلة صغيرة تحتوي على الأقل سبعة أفراد في نباتات الأرابيدوسيس مع سلسلة مشابهات في أنواع العديد من العائلات التي تشمل نباتات المحاصيل الهامة (جدول ٩-٢) . مدى حجم بروتينات البادئ المرتبطة مع Pro AtPep 1 المعروفة حتى الآن تتراوح بين ٧٥ وحتى ١٥٤ حمض أميني (جدول ٩-٢) . بناء على موضعها الكروموسومي فإن عائلة جين AtPep 1 في الأرابيدوسيس قسمت إلى ثلاثة تحت عائلات . أفراد تحت العائلات I (3 , 2 , Pro Atpep 1) و II (6 , 5 , 4 , Prp AtPep) وضعت في مجاميع في موضعين مختلفين في الكروموسوم ٧ . وجين واحد فقط (Pro AtPep 6) ينتمي إلى تحت العائلة III ويقع على الكروموسوم II . بارالوجات أرابيدوسيس تتقاسم الأحماض الأمينية العشرة GXXN (K/R)X SSG التي تؤكد أهميتها لتحقيق النشاط الحيوي الكامل . من الملاحظ أن حمض الجلوسين GLY 17 هو الحمض الأميني الوحيد المتحفظ عليه في جميع الأنواع المعروفة من سلسلة مشابهات AtPep 1 (الجدول ٩-٢) . دراسات إحلل الألانين أوضحت أن GLY 17 ضروري للنشاط الحيوي لمركب AtPep1 .

في الأرابيدوسيس فإن جين Pro AtPep 1 يعبر عنه عند مستويات تكوينية منخفضة في جميع الأنسجة مع مستويات قاعدية عالية لوحظت في الأزهار والجذور . في الأوراق يتم تخفيض جين Pro AtPep 1 بواسطة الجروح والميثيل جسمونات والاثيلين .

أفراد عائلة أخرى من الجينات أظهرت نظم تعبير مشابهة في مدى عريض من الأنسجة وأتضح أنها تنظم بشكل فائق بواسطة الميثيل جسمونات MeJA . تحليل بيانات السلسلة الدقيقة للتعبير الجيني في نباتات الأرابيدوبسيس أظهرت أن بعض بارالوجات Pro AtPep1 تنظم في تباين بواسطة الممرضات البكتيرية والفطرية والمحفزات المشتقة من الممرض . إضافة 1 AtPep إلى أوراق الأرابيدوبسيس المقطوعة خلال البتلات المقطوعة أحدثت تنشيط للعديد من الجينات المشتركة في الدفاع ضد الممرضات مثل تلك التي تشفر للدفاع الديفنسين (PDF – 1.2) وغيرها من البروتينات المرتبطة بالمرضية (PR) . تغذية الأوراق بمركب 1 AtPep سبب إنتاج فوق أكسيد الإيدروجين H_2O_2 في الحزم الوعائية .

عندما يعبر بشكل فائق عن الجين 1 Pro AtPep في نباتات الأرابيدوبسيس تحت تنظيم المحفز 35S فإن جين ديفنسين المرتبطة بالمرض يعبر عنه تكوينياً والنباتات المهندسة وراثياً كانت أكثر مقاومة للعدوى بواسطة الممرض الذي يسكن التربة بيثيوم اريجيولار . نباتات المقارنة البرية المعدية تنمو بحجم صغير خاصة الجذور عما هو الحال مع النباتات المهندسة وراثياً . هذه النتائج توضح أن 1 Pro AtPep فائقة الإنتاج تجهز كي تطلق الببتيد الفعال حيويًا حتى ينشط تكوينياً استجابة الدفاع – الممرض في النسيج المهندس وراثياً . لم يشار إلى أي ببتيديات داخلية مثل تلك التي تنشط الجينات المرتبطة بالمناعة الأصلية في النباتات .

جدول (٩-٢) : مقارنة تتابعات الأحماض الأمينية في الكربون الطرفي لبارالوجات 1 AtPep والأورثولوجات المحتوية على تتابعات 1 AtPep المزروعة في النباتات . تتابع 1 AtPep (٢٣ متبقيات) ترتبط بالكربون الطرفية المختصرة من ٦ بارالوجات وسبعة أورثولوجات . الأحماض الأمينية للـ SS GR / KX GXXN توجد في جميع بارالوجات 1 AtPep موضحة بحروف كبيرة (ماخوذة من Huffakr et al. 2006 a , b) .

Peptide	Precursor gene code	C-terminal amino acid sequence	Precursor length (amino acids)
AtPep1	At5g64900	69-ATKVKAKQRGKEKVSSGRPGQHN*	92
AtPep2	At5g64890	74-DNKAKSKKRDKEKPSSGRPGQTNSVPNAAIQVYKED*	109
AtPep3	At5g64905	73-EIKARGKNKTKPTPSSGKGGKHN*	96
AtPep4	At5g09980	55-GLPGKKNVLKKSRESSGKPGGTNKKPF*	81
AtPep5	At5g09990	59-SLNVMRKGIRKQPVSSGKRGGVNDYDN*	86
AtPep6	At2g22000	53-ITAVLRRRPRPPPYSSGRPGQNN*	75

AtPep7	At5g09975	81-VSGNVAARKGKQQTSSGKGGGTN*	104
Canola	CD816645	74-VARLTRRRPRPP-YSSGQPGQIN*	95
Potato	CV505388	93-PTERRGRPPSRPKVGSGPPPQNN*	116
Poplar	CV23975	94-DAAVSALARRTTPVSRGGGGQTNTTTS*	121
Medicago	Bi311411	87-LSSMGRGGPRRTPLTQGPPPQHN*	111
Soybean	CD401281	93-ASLMATRGSRGSKISDGSQPQHN*	115
Rice1	CF333408	131-ARLRPKPPGNPREGSGGNGGHHH*	154
Rice2	AK111113	65-DDSKPTRPGAPAEGSGGNGGAIHTAASS*	93

لقد تم عزل البروتين المرتبط مع AtPep 1 (~170-KD) من الأغشية الميكروسومية لمعلق خلايا الأرابيدوبسيس المزروعة بواسطة التعليم بالقابلية الضوئية Photoaffinity (Yamaguchi et al. 2006). البروتين يرتبط مشتق AtPep 1 الأيوديني مع ٠,٢٥ kd nM على غرار ثابت الارتباط لمشتق السيستيمين الأيوديني مع المستقبل SR-160 الخاصة به (kd of 0.17 nM). ميكروسكوبي الكتلة لمهضوم الترتيبك tryptic عرفت بروتين الارتباط كمستقبل شبيه البروتين كينيز لعدد ١١٢٣ من الأحماض الأمينية حيث تشفر بواسطة الجين At1g73080 في الأرابيدوبسيس. بروتين مستقبل AtPep 1 يسمى AtPepR 1 يحتوي على ٢٧ من تكرارات غنية بالليوسين وهي منطقة غشاء ناقل وأساس Ser / Thr بروتين كينيز داخل الخلايا. مشتق AtPep 1 المعلم إشعاعياً لا يرتبط بالأغشية الميكروسومية من طفرتان مغروستان للجين At1g73080 وخلايا معلق الدخان التي تحولت مع جين AtPepR 1 كانت قادرة على الارتباط مع AtPep 1 وأظهر استجابة الكينية تقليدية alkalization. أوضحت هذه النتائج أن PepR 1 هو مستقبل وظيفي. أربعة من بين ستة مشابهاة AtPep 1 تم تخليقها بناء على اختصار تتابع الحمض الأميني ذات الكربون الطرفي للبارالوجات Pro Pep 1 في نباتات الأرابيدوبسيس كانت فعالة بيولوجياً في تقييم الألكينية مع خلايا الأرابيدوبسيس. الببتيدات المخلقة الفعالة حيويًا كانت قادرة كذلك على المنافسة مع مشتق AtPep 1 المعلم إشعاعياً للارتباط مع PepR 1. لقد أدت هذه النتيجة إلى الاقتراح بأن Pep 1 قد يكون فعلياً المستقبل لخمس على الأقل من سلسلة ببتيديات AtPep 1 والتي يمكن أن تنشأ خلال مهاجمة الممرض (Yamaguchi et al. 2006).

٥- اعتبارات النمو :

اكتشاف إشارات الببتيد المرتبط بالدفاع التي تختلف وراثياً في العائلة الخبازية تعمل خلال نفس مسار تأثير الأوكتاديكانويد. لقد وسع البروفيسور C.A.Ryan ومعاونوه قاعدة تعريف السيستيمين كي تشمل أي ببتيد إشاري من النباتات التي تنشط جينات الدفاع النباتية. لذلك فإن هذا التعريف يجب أن يمتد إلى ببتيديات AtPep للأرابيدوبسيس والتي

تنظم بشكل فائق بواسطة الجروح والمرضات لتنشيط الجينات المرتبطة بالدفاع ضد الممرض خلال مسار أوكتاديكانويد . مشابهاً AtPep توجد كذلك في نباتات العائلة الخازية (جدول ٩-٢) .

لا يوجد تتابع متشابه بين بادئات بروتين Sps , Hyp Sys وبيتيدات Atpep 1 (الشكل ٩-١) . لقد وجدت بيتيدات Sps , Hyp Sys فقط في أنواع العائلة الخازية ولأن استجابة الدفاع الجهازية بالجروح محدودة الوجود في النباتات . حتى بادئات HypSys في الطماطم والدخان فقط تنقسم كمية محدودة من الحمض الأميني (قارن الشكل ٩-١ B , C) . هذا ولو أن البيتيدات النشطة حيويًا أظهرت بعض درجات التحفظ مما أدى إلى الاقتراح بأنها ذات أصل شائع . كمثال فإنها غنية في بقايا البروتين / هيدروكسي برولين والسيرين والثريونين وهي تكتسح بواسطة أحماض أمينية مشحونة (الجدول ٩-١) . جليكوبيبتيدات Hyp Sys تحتوي على -DOS وهي تحورات لاحقة للترجمة تشتق من -PPS- حوافر أولية للترجمة توجد كذلك في Sys . At pep 1 يعاني من نقص هذا الحافز ولكن بعض البروتينات Atpep 1 والأورثولوجيات عبارة عن بيتيدات غنية بالبرولين ومشحونة بشكل كبير (جدول ٩-٢) . من المعروف أن مخلفات البرولين تعمل على توجيه تركيب في السلاسل الأساسية للبيتيدات الفعالة بيولوجيًا الهامة لإحداث تداخلات روابط الببتيد مع مستقبلاتها (Rath et al., 2005) .

على غرار البيتيدات المرتبطة Sys , At pep 1 إنها تخلق من بروتينات بادية أكبر والتي تعاني من نقص تتابع التأشير التقليدي . بالإضافة إلى ذلك فإن بادئات Atpep عبارة بروتينات مشحونة عاليًا مع شرائط من بقايا الليسين (K) وحمض الجلوتاميك (E) (التي تتطابق مع الواحدات شبيهة KEKE حيث وجدت كذلك في ProSys (الشكل ٩-١ A , D) . بسبب هذا الوضع والتشابهات التي ذكرت أعلاه فقد افترض أن إشارات الببتيد التي تنشط استجابات الدفاع ضد الممرضات النباتية وآكلات النباتات قد تنشأ من جين سلفي شائع . حوادث الطفرية مثل غرس الجين المتبوع بحوادث الإطالة والتضاعف يبدو أنها تشترك في نشوء بادئات تأشير الببتيد في النباتات . هذا قد يفسر لماذا أن بادئات الهورمون الأولى المرتبط ببيتيدات الدفاع يحدث له شعب سريع عن البيتيدات النشطة حيويًا فعليًا .

حيث أن بيتيدات Atpep 1 منتشرة بشكل عريض في المملكة النباتية فإنها قد تكون نشأت قبل السيستيمينات في العائلة الجنازية . حيث أن بيتيدات Hyp Sys توجد في معظم أنواع العائلة الجنازية والمركب Sys فقط يوجد في تحت قبائل العائلة الجنازية فإن بيتيدات Hyp Sys يبدو أنها نشأت مبكرًا عن Sys . من الممكن أن مستقبل البراسيتوليد نشأ في البداية ثم حدث له تعزيز متأخر كي يسهل تأشير السيستيمين . من المثير للاهتمام روية ما إذا كانت بيتيدات HypSys تتداخل مع مشابهاً مستقبل Sys أو لها مستقبلات مختلفة . لقد لوحظ أن التعبير الفائق لجينات ProSys في الطماطم إذا عبرت عنها في

البطاطس المتحولة وراثياً تسبب تراكم بروتينات تنظيم التطور في الدرنات . الرابطة بين مسارات التأشير المشتركة في تطور ودفاع النباتات غير مفهومة جيداً حتى الآن .

الرؤى والمنظورية

لقد أدت الأدلة المتوفرة إلى الاقتراح أن هورمونات الببتيد المرتبطة بالدفاع تلعب دوراً أولياً في تكبير الإشارات الناتجة من الحشرات وهجوم الممرضات في النباتات من خلال تنشيط مسار الإشارات المعتمد على الليبيد في اللحاء . الغرض الأساسي يتمثل في التراكم الجهازي السريع للمواد الطاردة وعوامل مضادات التغذية خلال النبات والتي تقلل وتحد من جودة الغذاء وتخفف من النمو و / أو تمنع تكوين مستعمرات الكائنات الغازية . ميكانيكية الإشارات المعتمدة على الببتيد ما هي إلا مشتقات لتنشيط الاستجابة الدفاعية الحادة بالجروح أو الالتهابات المعال بواسطة سيتوكينات الببتيد مثل الانترليوكينات و @ - TNF خلال مسار إشارات إيكوسانويد في الحيوانات .

بالرغم من الدراسات المكثفة في النظم الحيوانية والخميرة إلا أن تنظيم التخليق والتجهيز والتخزين والإفراز لإشارات التأشير في النباتات مازالت فقيرة الفهم . مواقع التجهيز التي تحرر وتفرد الببتيدات النشطة غير معروفة ولا طبيعية الببتيديزيس المشتركة . الميكانيكية التي ينفرد بها Sys , Atpep 1 في أبوبلاست جدار الخلية مازالت غير معروفة . حوالى نصف دسنة من عائلات هورمونات النبات الببتيدية تم تعريفها حتى وقتنا هذا ووجد أنها تخلق من البادئات التي تعاني من نقص التأشير مما أدى إلى الاقتراح بأنه في الغالب أكثر منه في الحيوانات والخميرة الببتيدات المنظمة النباتية وتنتقل خلال ميكانيكيات غير تقليدية إلى الفراغ خارج الخلايا (Nickel 2003) . الدراسات اللاحقة عن النشوء الحيوي لهورمونات الببتيد المرتبطة بالدفاع واكتشاف إشارات ببتيد جديدة ومستقبلاتها سوف تقدم دليل أكبر عن نشوء نظم ببتيد الدفاع في ذوات النواة الحقيقية من السلف الشائع .

Reference

- Bergey DR, Howe GA Ryan CA (1996) Polypeptide signaling for plant defensive exhibits analogies to defense signaling in animals , *Proce Natl Acad Sci USA* 93 : 12053 – 12058
- Coffeen WC , Wolpert TJ (2004) Purification and characterization of serine proteases that exhibit caspase – like activity and are associated with programmed cell death in *Avena sativa* . *plant Cell* 16 : 857 – 873
- Dombrowski JE , Pearce G, Ryan CA (1999) Proteinase inhibitor – inducing activity of the prohormone prosystemin resides exclusively in the C-terminal systemin domain . *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 12947 – 12952
- Felix G , Boller T (1995) Systemin induces rapid ion fluxes and ethylene biosynthesis in *Lycopersicon peruvianum* cells . *plant J* 7 : 381 – 389

- Green TR , Ryan CA (1972) Wound – induced proteinase inhibitor in plant leaves – possible defense mechanism against insects . Science 175 : 776 – 777
- Howe GA (2005) Jasmonates as signals in the wound response . J Plant Growth Regul 23 : 223 – 237
- Huffaker A , Pearce G , Ryan CA (2006a) An endogenous peptide signal in Arabidopsis activates components of the innate immune response . Proc Natl Acad Sci USA 103 : 10098 – 10103
- Matsubayashi Y , Sakagami Y (2006) peptide hormones in plants . Ann Rev plant Biol 57 : 649 – 674
- Nickel W (2003) The mystery of nonclassical protein secretion – A current view on cargo proteins and potential export routes , Eur J Biochem 270 : 2109 – 2119
- Orozco – Cardenas ML, McGurl B , Ryan CA (1993) Expression of an antisense prosystemin gene in tomato plants reduces resistance toward Manduca sexta larvae . proc Natl Acad Sci USA 90 : 8273 – 8276
- Pearce G , Strydom D, Johnson S, Ryan CA (1991) Apolypeptide from tomato leaves activates the expression of proteinase inhibitor genes . Science 253 : 895 – 898
- Ryan CA ,(2000) The systemin signaling pathway ; differential activation of plant defensive genes . Biochim Biophys Acta 1477 : 112 – 121
- Schaller A (1998) Action of proteolysis – resistant systemin analogues in wound signaling phytochemistry 47 : 605 – 612
- Tanaka S (2003) Comparative aspects of intracellular proteolytic processing of peptide hormone precursors ; studies of proopiomelanocortin processing . Zool Sci 20 : 1183 – 1198
- Walling LL (2006) Recycling or regulation ? The role of amino – terminal modifying enzymes . Curr opin plant Biol 9 : 227 – 233
- Yamaguchi Y , Pearce G , Ryan CA (2006) The cell surface leucine – rich repeat receptor for Atpep 1 , an endogenous peptide elicitor in Arabidopsis , is functional in transgenic tobacco cells . Proc Nat Acad Sci USA 103 : 10104 – 10109
- Zhang L , Kelley J, Schmeisser G , Kobayashi YM , Jones LR (1997) Complex formation between junction , triadin , calsequestrin , and the ryanodine receptor – proteins of the cardiac junctional sarcoplasmic reticulum membrane . J Biol Chem 272 : 23389 – 23399

ثانياً : إنزيمات الكينازيس بروتين المنشط بالميتوجين فى الاستجابة لآكلى النباتات

MAP Kinases in Plant Response to Herbivory

Johannes Stratmann

إنزيمات الكينازيس بروتين المنشط بالميتوجين (MAPKs) عبارة عن إنزيمات محولة للإشارات التى تشترك فى العديد من استجابات النباتات للبيئة بما فيها استجابات الدفاع ضد آكلات النباتات . الحشرات ملتهمة النباتات تخلق إشارات أولية مختلفة مشتقة من النباتات والحشرات كما هو الحال مع إشارات النبات من بيتيد السيستيمين وإشارات الجروح ومقترنات الحمض الدهنى - الحمض الأمينى . هذه الإشارات تنشط حزمة من MAPKs الخاصة . خفض وظيفة هذه الإشارات MAPKs يعطل تخليق إشارات الإجهاد الثانوية بما فيها إشارة الجرح الفاتحة لحمض الجسمونيك المطلوب لإحداث التنظيم الفائق لبروتينات الدفاع . بالتتابع فإن فقد وظيفة MAPK يؤدي إلى خفض مقاومة النباتات ضد الحشرات آكلة الأوراق . MAPKs المستجيب للحشرات يعمل كإشارات ضرورية فى استجابات الدفاع للممرضات والإجهاد اللا حيوى من التحديات الكبرى أمام الباحثين فى المستقبل حل لغز الميكانيكات الجزيئية التى تدرك وتتكامل مع إشارات الإجهاد لخلق نظم تأشير MAPK الخاص المنشط والتى تؤدي إلى استحثاثات دفاع خلوية .

J. Stratmann

Department of Biological Sciences , University of South Carolina , SC 29208 , USA

e-mail : johstrat@biol.sc.edu

A. Schaller (ed.), Induced plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١ - مقدمة

توجد ثروة من المعلومات عن الجينوم أدت إلى إظهار الدور الرائد للبروتين كينازيس فى تنظيم العمليات الخلوية . الموقع الالكترونى النشاط المسمى Plant P مكرس لدراسات فسفرة النبات وقد أشار إلى أن جينوم الارابيدوبسيس يحتوى على حوالى ١٠٠٠ بروتين كينازيس مزعوم تكون خمسة أقسام كبرى بمجموع ٨٠ عائلة متميزة .

<http://plantsp.genomic.purdue.edu/html>

خلافًا لما هو موجود في الحيوانات والخميرة فإن الفسفرة الخاصة للثيروسين نادراً ما تحدث في النباتات . غالباً فإن جميع البروتين كينيزيس تكون Ser / Thr كينيزيس خاصة . لقد تم تعريفها تركيبياً بواسطة وجود ١٢ تحت مجال محفوظة تكون مركز تحفيز الإنزيمات . حقل أو مجال الكينيز في الغالب يمتد طرفياً بالنتروجين والكربون بواسطة حقول أو مجالات بروتين أخرى (Hants and Hunter , 1995) . العديد في البروتين كينيزيس أصبحت منشطة بواسطة الفسفرة عبر كينيزيس أخرى وتفقد نشاطها بواسطة فقد الفسفرة Dephosphorylation عبر بروتين فوسفاتيزيس والذي يضم حوالى ٣٠٠ فرد في جينوم أرابيدوبسيس (Phnt P) .

من المعروف أن الفسفرة العكسية Reversible ما هي إلا جزء من مسارات الإشارات العديدة التي تنظم عمليات التطور واستجابات النباتات للبيئة . في هذا المقام سوف نتناول توضيح دور سيول الميتوجين - بروتين كينيز المنشط (MAPK) في استجابات النباتات للحشرات آكلات الأوراق وللجروح الميكانيكية . لفهم وظيفة MAPKs يكون من المهم ملاحظة أن العديد من الاستجابات النباتية لعوامل الإجهاد تتداخل عند مستويات متفاوتة في تحول الإشارة والاستجابات الخلوية . تحليل النسيج العالمى أظهرت وجود تداخلات بين مظاهر التعبير الجينى الذى يحفز بواسطة منشطات إجهاد مختلفة وكذلك بواسطة التعبير الجينى ذات المنشط الخاص (Cheong et al., 2002) . يبدو أن عدد محدود من إشارات الإجهاد الثانوية مثل التدفق الأيونى (مثل H^+ , Ca^{2+}) ، وحامض الجسمونيك (JA) والاثيلين وأنواع الأكسجين النشط (ROS) وحامض ساليسيليك (SA) تعمل وظيفياً في مسارات تأثير متعددة التي يمكن أن تحفز تركيباً ووظيفياً إشارات إجهاد متنوعة . من المعروف أن MAPKs تعمل كنقاط تجمع لإشارات الإجهاد المتعددة . تداخل وتنسيق هذه المكونات الإشارية يعتقد حدوثها في شبكة تأثير حيث عناصر التأثير المتعددة تتداخل داخلياً بشكل قوى ويؤثر كلا منها على الآخر ويجب أن يؤخذ في الحسبان أن MAPKs تعمل استجابة للجروح وتعمل كذلك في مسارات تأثير الإجهاد الأخرى .

قليل من الدراسات تناولت دور MAPKs وغيره من البروتين كينيزيس استجابة للضرر الذى يحدث للنباتات من جراء هجوم الحشرات آكلة النباتات . لقد ركزت معظم الدراسات على دور البروتين كينيزيس في الاستجابة لجرح ورقة النباتات بوسيلة ميكانيكية مثل قاطع النرف (المرقأة) أو الملاقط للعصر أو أمواس العلاقة للقطع أو الصنفرة لكشط سطح الورقة . لقد لوحظ أن الجروح الميكانيكية والجروح بواسطة الحشرات القارضة تؤدي إلى خلق العديد من إشارات الجروح الأولية مثل الإشارات الجهازية التي تنفج سرياً سواء الإشارات الهيدروليكية والكهربية (Rhodes et al. 1996, Malone 1996) (والببتيدات مثل السيستيمين والسيستيمينات الغنية بالهيدروكسى برولين Peatce and)

2005 , Ryan) . بالإضافة إلى ذلك فإن الحشرات تخرج مقترنات للحمض الدهنى - الحمض الأمينى أو غيرها من المحفزات الخاصة بالحشرات مثل بيتا - جلوكوسيديز فى مواقع الجروح حيث تعمل كمحفزات لاستجابات الدفاع المباشرة وغير المباشرة . مع بعض الحشرات فإن التنشيط الميكانيكى الذى ينتج بواسطة فكوك الحشرة وحده قد يكون كافياً لتحقيق استجابة دفاعية كاملة للجروح ومقاومة الحشرات بالإضافة إلى ذلك فإنه خلافاً للجروح التى تحدث بالحشرات فإن الجروح الميكانيكية تسبب إجهاد جفاف للأوراق المجروحة مع تنشيط متلازم للاستجابات المرتبطة بإجهاد الماء . إذا تم تنشيط البروتين كينيزيس كنتابع لحدوث الجروح بوسائل ميكانيكية فإنه من غير الواضح ما إذا كانت إشارة التنشيط الفعلية حقيقة الوجود وما إذا كانت وثيقة الصلة بالاستجابات للجرح المحفز بواسطة الحشرات .

الحشرات القارضة تمثل طائفة واحدة فقط من بين الحشرات ملتهمة النباتات بالنظر لميكانيكيات تلف النبات فإنها لا تمثل دوراً شائعاً كما هو الحال مع الحشرات الثاقبة الماصة مثل المن والذباب الأبيض والتربس . هذه المجموعة من الحشرات تستخدم استراتيجيات متطورة لمص وشرب محتويات الخلايا واللحاء . المنشط الفعلى للجرح أكثر ضيقاً وينتج بواسطة مسابير معقدة خاصة تستطيع اختراق الخلايا الفردية . هذا ولو أن الحشرات الثاقبة الماصة تستطيع تنشيط مسارات الدفاع التى يمكن أن تحفز بواسطة الممرضات الميكروبية والنيماتودا والحشرات القارضة (Li et al. 2002b , 2006) .

إنزيمات بروتين فوسفاتيزيس تزيل مجاميع الفوسفات من MAPKs ومن ثم تنشطها . مع قليل من الاستثناءات (Xu et al, 1998 , Sea et al. 2007) فإنه لا يعرف إلا القليل عن دور البروتين فوسفاتيزيس فى الاستجابات النباتية للجروح وأكلى النباتات . هذا حقيقى كذلك مع وسائط البروتين لإنزيمات MAPKs والكينيزيس المتدفقة التى تنشط MAPKs لذلك فإن هذه المجاميع من البروتينات لن تناقش بالتفصيل فى هذا المقام ولو أنها هامة فى فهم دور ووظيفة MAPKs .

٢- MAP كينيزيس فى استجابات النباتات لأكلى الأوراق

٢-١- شلالات أو سلاسل المیتوجين المنشطة للبروتين كينيز

شلال MAPKs عبارة عن سلسلة ذات أطر ثلاثة من الفوسفوريك التى تستهل وتبدأ بواسطة MAPKs كينيز كينيز (MAPKKK وتعرف كذلك MEKK) . MAPKKKs تنشط فى الغالب من تتابع مستقبل يعول الإدراك الحسى لإشارات الإجهاد . هذه السلسلة تفسر ومن ثم تنشط MAPKs (MAPKKs يطلق عليها كذلك NEKs أو MKKs) على مخلفات اثنين Ser / Thr فى حزمة تنشيط الكينيز . MAPKKs عبارة عن كينيزيس مزدوجة التخصصية التى تنشط MAPKs (تعرف كذلك MPKs) خلال

فسفرة بقايا الثريونين والثيروسين في حافز الفسفرة الذي يقع في فص تنشيط MAPKs بين تحت وحدات الكينيز VII , VIII (Ichimura et al. 2002) . في النباتات فإن MAPKKs هي البروتين كينيزيس الوحيدة المعروفة جيداً والتي تفسر مخلفات الثيروسين. بعض MAPKs تنظم في النسخ ولكن تنشيط ما بعد النسخ للـ MAPKs المتكون قبلاً غير الفسفرة في الغالب يسبق تنشيط النسخ وهو مطلوب لنشاط الكينيز . هذا قد يفسر لماذا أن التحليل الدقيق كشف فقط عن عدد صغير من نسخ الكينيز تنظم كثيراً استجابة لمهاجمة النباتات بواسطة ديدان عامة وخاصة في الأرابيدوبسيس (Reymond et al. 2004) . MAPKs عبارة عن Ser / Thr كينيزيس والتي تفسر مدى من بروتينات الوسيط العصاري والنوى الذي يعمل في التمثيل والنسخ على الأقل في خلايا الخميرة . في النباتات لم يعرف إلا القليل من الوسائط في الداخل ولكن الصورة تشير إلى توافق مع النماذج الحيوانية .

جينوم النبات يحتوى عدد كبير من MAPKs مثل ٢٠ في الأرابيدوبسيس ، ٢١ في الحور ، ١٥ في الأرز (Hamel et al. 2006) ولكنها تحتوى نصف العدد من MAPKKs . عدد NAPKKKs الفعالة وظيفياً متضارب (Chempion et al.2004) وقد تزيد عن ٦٠ كينيزيس من مختلف عائلات الجين . الوظيفة العامة وتمثيل الجينوم لشلل MAPKs تم وضعها بصورة جيدة في (Champion et al. 2004 ; Hamel et al. 2002 , Ichimura et al. 2006) .

الدراسات المقارنة للنشوء الوراثي Phylogenetic للـ MAPKs النباتية أظهرت اثنان من النظم الكبرى أحدهما يتميز بوجود فسفرة TEy والآخر بواسطة TDy . من بين ثنائية الفلقات فإن أفراد النظام TEy فقط معروف أنها تستجيب للجروح . هي تقع في ثلاثة تحت مجاميع متميزة A1 , A2 , B1 . لا يوجد أى من MAPKs تنشط حصرياً بواسطة الجروح أو إشارات الجروح . من الصفة العامة التي تميز MAPKs أنها تستجيب لمدى عريض من المنبهات والإشارات . استجابة MAPKs TDy للجروح تم تعريفها كذلك في استجابة الجرح وقد تم تناولها حديثاً ولن نتناولها في هذا المقام .

٢-٢-٢ MAPK المحفزة بالإجهاد (SIPK) وبالجروح (WIPK)

من أفضل الدراسات عن MAPKs النباتية المحفزة بالإجهاد (SIPK) و MAPKs المحفزة بالجروح (WIPK) تلك التي أجريت على الدخان ومشابهاتها في الأرابيدوبسيس والبرسيم والبقدونس والطماطم هذه تنتمي إلى تحت مجاميع A1 , A2 على التوالي . معظم إشارات الإجهاد التي تنشط SIPK تنشط WIPK كذلك (Nakagami et al. 2005) . ويزداد نشاط SIPK استجابة لأي خلل في البيئة الخلوية

References

- Abdeen A, Virgos A, Olivella E, Villanueva J, Aviles X, Gabarra R, Parl S (2005) Multiple insect resistance in transgenic tomato plants over-expressing two families of plant proteinase inhibitors. *Plant Mol Biol* 57:189-202
- Beekwilder J, Schipper B, Bakker P, Bosch D, Jongsma M (2000) Characterization of potato proteinase inhibitor II reactive site mutants. *Eur J Biochem* 267:1975-1984
- Bode W, Huber R (2000) Structural basis of the endoproteinase-protein inhibitor interaction. *Biochem Biophys Acta* 1477:241-255
- Brito LO, Lopes AR, Parra JRP, Terra WR, Silva MC (2001) Adaptation of tobacco budworm *Heliothis virescens* to proteinase inhibitors may be mediated by the synthesis of new proteinase. *Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol* 128:365-375
- Clauss MJ, Mitchell-Olds T (2004) Functional divergence in tandemly duplicated *Arabidopsis thaliana* trypsin inhibitor genes. *Genetics* 166:1419-1436
- De Leo F, Gallerani R (2002) The mustard trypsin inhibitor 2 affects the fertility of *Spodoptera littoralis* larvae fed on transgenic plants. *Insect Biochem Mol Biol* 32:489-496
- Ferry N, Edwards MG, Gatehouse J, Capell T, Christou P, Gatehouse AMR (2006) Transgenic plants for insect pest control: a forward looking scientific perspective. *Transgenic Res* 15:13-19
- Girard C, Le Metayer M, Bonade-Bottino M, Pham-Delegue MH, Jouanin L (1998) High level of resistance to proteinase inhibitors may be conferred by proteolytic cleavage in beetle larvae. *Insect Biochem Mol Biol* 28:229-237
- Green TR, Ryan CA (1972) Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves – possible defense mechanism against insects. *Science* 175:776-777
- Hilder VA, Gatehouse AMR, Sheerman SE, Barker RF, Boutler D (1987) A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. *Nature* 330:160-163
- Iwai K, Fushiki T, Fukuoka S (1988) Pancreatic-enzyme secretion mediated by novel peptide: monitor peptide hypothesis. *Pancreas* 3:720-728
- Jongsma MA, Bolter C (1997) The adaptation of insects to plant proteinase inhibitors. *J Insect Physiol* 43:885-895

- Kunitz M (1946) Crystalline soybean trypsin inhibitor. *J Gen Physiol* 29:149-154
- Liu YL, Salzman RA, Pankiw T, Zhu-Salzman K (2004) Transcriptional regulation in southern corn rootworm larvae challenged by soyacystatin N. *Insect Biochem Mol Biol* 34:1096-1077
- Michaud D (1997) Avoiding protease-mediated resistance in herbivores pests. *Trends Biotechnol* 15:4-6
- Moon J, Salzman RA, Ahn JE, Koiwa H, Zhu-Salzman K (2004) Transcriptional regulation in cowpea bruchid guts during adaptation to a plant defense protease inhibitor. *Insect Mol Biol* 13:283-291
- Nauen R, Sorge D, Sterner A, Borovsky D (2001) Tmof-like factor controls the biosynthesis of serine protease in the larval gut of *Heliothis virescens*. *Arch Insect Biochem Physiol* 47:169-180
- Pereira PJB, Bergner A, Macedo-Ribeiro S, Huber R, Matschiner G, Fritz H, Sommerhoff CP, Bode W (1998) Human B-tryptase is a ring-like tetramer with active sites facing a central pore. *Nature* 392:306-311
- Qu LJ, Chen J, Liu MH, Pan NS, Okamoto H, Lin ZZ, Li CY, Li DH, Wang JL, Zhu GF, Zhao X, Chen X, Gu HG, Chen ZL (2003) Molecular cloning and functional analysis of a novel type of Bowman-Birk inhibitor gene family in rice. *Plant Physiol* 133:560-570
- Ryan CA (1990) Protease inhibitors in plants – genes for improving defenses against insects and pathogens. *Ann Rev Phytopathol* 28:425-449
- Song HK, Suh SW (1998) Kunitz-type soybean trypsin inhibitor revisited: refined structure of its complex with porcine trypsin reveals an insight into the interaction between a homologous inhibitor from *Erythrina caffra* and tissue-type plasminogen activator. *J Mol Biol* 275:347-363
- Tortiglione C, Fogliano V, Ferracane R, Fanti P, Pennacchio F, Monti LM, Rao R (2003) An insect peptide engineered into the tomato prosystemin gene is released in transgenic tobacco plants and exerts biological activity. *Plant Mol Biol* 53:891-902
- Volpicella M, Ceci LR, Gallerani R, Jongsma MA, Beekwilder J (2001) Functional expression on bacteriophage of the mustard trypsin inhibitor MTI-2. *Biochem Biophys Res Commun* 280:813-817
- Yang L, Fang ZY, Ducke M, van Loon JJA, Jongsma MA (2008) The diamondback moth, *Plutella xylostella* specifically inactivates Mustard Trypsin Inhibitor 2(MTI2) to overcome host plant defense (submitted).
- Zimmermann P, Hirsch-Hoffmann M, Hennig L, Gruissem W (2004) Genevestigator. *Arabidopsis* microarray database and analysis toolbox. *Plant Physiol* 136:2621-2632

مثبط معروف لتخليق JA والتأشير (Doares et al. 1995) ؟ لقد خلص الباحث إلى أن هذا غير وارد حيث أن خمود SIPK , WIPK فقط لا تؤدي إلى تخليق SA لأنه عندئذ تكون مستويات JA أقل كثيراً عما هو الحال مع نباتات المقارنة . مازال هناك تحدى لحل تضارب النتائج المختلفة التي تحصل عليها باستخدام RNAi أو خفض المرافق للـ WIPK . حيث أن WIPK , SIPK من النقاط المتنوعة للعديد من إشارات الإجهاد التي تعمل في شبكة التأشير فإن النسبة بين مستويات SIPK إلى WIPK والتي يحتمل أن تختلف فيما بين الخطوط المختلفة ذات MAPKs الخاملة قد تكون ذات أهمية لخلق استجابات مناسبة .

٢-٣ - Le MPK1 , Le MPK2 , Le MPK3

في الطماطم فإن الاستجابة للجروح تعال بواسطة إشارات ببتيدي السيستيمين المحفز بالجروح . السيستيمين ضروري وكافى للدفاع الناجح في نباتات الطماطم ضد الحشرات ملتهمة النباتات كما أتضح من تثبيط مضاد الحس ومن تجارب التعبير الفائق للبروسيتيمين (McGurl et al. 1994) . في الاستجابة لجرح ورقة النبات أو المعاملة بالسيستيمين خلال السيقان المقطوعة يزداد نشاط MAPKs خلال دقائق في نظام جهازى . قطع الساق نفسه يحدث تحفيز سريع لنشاط MAPKs فى الأوراق مما يوضح أن الإشارة الميكانيكية السريعة المكبرة والتي يحتمل أن تكون ذات طبيعة هيدروليكية تسبب التنشيط الجهازى للكينيزيس MAPKs . قطع الساق وحده يحفز زيادة انتقالية في نشاط MAPKs والذي يدوم حوالى ١٥ دقيقة . فى وجود ببتيدي السيستيمين كان نشاط MAPKs أقوى وأكثر إطالة دوام (أكثر من ٦٠ دقيقة تنشيط MAPKs بواسطة السيستيمين يعتمد على المستقبل) . مشتق السيستيمين الذى يرتبط بمستقبل السيستيمين SR 160 دون أن ينشطه يمنع تنشيط MAPKs المحفز بالسيستيمين (Strtmann and Ryan 1997) . بالإضافة إلى ذلك فإن مركب النافثيل يوريا سورامين وهو مثبط معروف لتداخلات مستقبل سيتوكين - سيتوكين فى الحيوانات أتضح أنه يمنع ارتباط السيستيمين مع SR 160 ويوقف تنشيط MAPKs . تنشيط MAPKs المحفز بالجروح أو السيستيمين لم يتغير فى طفرة 1 def التى تعاني نقص JA مما يؤدي إلى القول بأن MAPKs تعمل سواء على تخليق JA أو فى مسار موازى . نشاط MAPKs المحفز بالسيستيمين وتخليق PI - II يعطى نفس منحنى العلاقة بين الجرعة والاستجابة مما يوضح أن MAPKs تعمل فى مسار اشارى يؤدي إلى تعبير جينات الاستجابة للجروح . أخيراً أتضح أن السيستيمين والجروح تنشط ثلاثة MAPKs يطلق عليها Le MPK1 و Le MPK2 و Le MPK3 (مع MAPK Lycopersicon e Sculentum) . والتي تمثل مشابهات أو

أورثولوج الطماطم لـ SIPK , Ntf4 , WIPK على التوالي (Holley et al. 2003 – Higgins et al. 2007) .

الجروح تولد أو تنتج إشارات متفاوتة واستخدام السيستمين خلال السيقان المقطوعة تتضمن منبه أو حاث الجرح Wound stimulus . لدراسة الاستجابات الخاصة بالسيستمين تم استخدام النباتات المتحولة وراثياً التي تعبر بشكل فائق عن البروسيستمين تحت سيطرة المحفز S 35 . هذه النباتات تظهر تراكم تكويني لمثبطات البروتينيز وقد استخدمت مبكراً لتعريف التخليق الحيوي لحمض الجسمونيك JA وطفرات التأشير كمخفضات الاستجابات المعالة بالبروسيستمين (Spr mutaats) إخماد جينات Le MPK1 و Le MPK2 و Le MPK3 في هذه النباتات المتحولة وراثياً بواسطة جين الخمود المحفز بالفيروس (VIGS) مما يؤدي إلى خفض مستويات مثبطات بروتينيز الدفاعية . لقد أظهرت ذلك أن وظيفة MAPKs هذه مطلوبة تعبير الجين المحفز بالبروسيستمين . الخمود المرافق لـ Le MPK 1/2 في نباتات : S 35 prosystemin أحدث خفض في تخليق JA استجابة للجروح واستكمال نباتات الخامدة Le MPK1/2 مع المثلل جسمونات (MeJA) والتي تعوض تخليق مثبط البروتينيزي . هذه البيانات تعضد دور Le MPK 1/2 في تنظيم تخليق JA . هذا يتوافق مع التجارب التي أظهرت أن نشاط MAPK لا يزداد بعد استخدام JA أو بادئه ١٢ - أوكسو - فيتو داينويك أسيد . حيث أنه تأكد أن أورثولوج LeMPK3 والمعروف WIPK مطلوب لتخليق JA في الدخان فإنه يحتمل أن السيستمين ينشط على الأقل ثلاثة من MAPKs الذي يعمل ضد تخليق JA .

Le MPK2 , Le MPK1 بهما تطابق بنسبة ٩٥% على مستوى الحمض الأميني وهما تنشطا في نظام متوافق بواسطة مدى من إشارات الإجهاد مثل محفزات الأوليجوسكريات والجروح والإشعاع بالأشعة فوق البنفسجية B وتوكسين الفطر المعروف بالاسم Fusicaccin مما أدى إلى الاقتراح بأنها تعمل وظيفياً بوفرة (Holley et al. 2003) . من المدهش ما وجد من أن كلاهما مطلوبان لتنشيط جين الدفاع بواسطة السيستمين . VIGS لأي من Le MPK1 أو Le MPK2 تخفض مستويات مثبط البروتينيز في نباتات Pro spstemin : S 35 . يوجد دليل بأن SIPK ينشط WIPK بواسطة تنظيم تعبير WIPK (Liu et al. 2003) وهذا لا يتوافق مع النتائج من الدراسات على الطماطم . حيث أن Le MPK 1,2 تتقاسم نفس الوظائف في نسيج الورقة فإن تأثيرات جرعة الجين قد تكون هامة لتعديل انسياب الإشارات وكذلك الاستجابات الخلوية . العديد من MAPKs في مختلف الأنواع النباتية تنشأ كمتابع لحوادث مضاعفة الجين الحديث . معظم هذه الجينات يعبر عنها وليس مفهوماً لماذا وجود البارالوجات

مكتيف . التجارب الإضافية عن جين الإثارة التي تستهدف MAPKs خاطئة المنطق Paralogous سوف تساعد في تفريز هذه الظاهرة .

تخليق JA يبدأ في الكلوروبلاست مؤدياً إلى تخليق بادئ JA ١٢- أوكسو - فيتو دانيوسك أسيد والذي يمثل لاحقاً في البيروكسي سومات إلى JA . من غير المعروف كيف أن إشارة السيستمين تتحول من غشاء البلازما - كينيز SR 160 المرتبط بالمستقبل غير السييتوسول لى الكلوروبلاست . معظم MAPKs النباتية عبارة عن بروتينات خلوية . لذلك فإن Le MPKs تقوم لاحقاً وإضافياً بنقل إشارة السيستمين لتنشيط عمليات التخليق الحيوي لحمض الجسمونيك JA في الكلوروبلاست . تعريف وسائط LeMPK ضروري لفهم التنظيم الطبقي العالي لاستجابة الجرح / السيستمين في خلايا الطماطم (Wasternack et al. 2006) . الوسائط المعروفة للـ Le MPK 1/2 التي تشابه AtMPK 6 هي الإنزيمات التي تكون الاثيلين خلويًا وهي - 1- aminocyclopropane - 1- carboxylate synthase 2 and 6 (ACS2 and ACS6 ; Liu and Zhang 2004) . تحدث فسفرة AtACS 2/6 بواسطة AtMPK 6 مما يؤدي إلى زيادة نشاط ACS وتخليق الاثيلين استجابة لمحفز الفلاجلين البكتيري . الاثيلين ضروري كذلك كرسول ثاني في الاستجابة للجروح (O' Donnell et al. 1996) وهو يخلق أو ينشأ استجابة للسيستمين في خلايا *L. peruvianum* المزروعة , (Felix and Boller 1995) . في نباتات الدخان فإن تخليق الاثيلين المحفز بالجروح ينظم جزئياً بواسطة SIPK (أورتولوج Le MPK 1/2) . من العقلانية القول أن تخليق JA ينظم بطريق غير مباشر بواسطة SIPK عبر الاثيلين .

بناء على التوازي الملحوظ بين استجابة الحيوان للالتهابات واستجابة الطماطم للجروح فقط اقترح أن MAPKs تنشط إنزيم فوسفوليبيز A2 الخلو (cPLA2) والذي يبدأ تخليق JA من خلال إنتاج حمض لينولينيك من ليبيدات الغشاء . في الخلايا الحيوانية فإن بعض عوامل النمو تنشط MAPKs والذي بدوره يقوم بتنشيط cPLA2 عبر الفسفرة (Lin et al. 1993) . لقد تم تعريف نشاط AcALA2 في مستخلصات أوراق الطماطم استجابة للجروح والسيستمين . هذا ولو أن cPLA2 المستجيب بوجه خاصة للجروح لم تعرف بعد ولا توجد أدلة بأن الخطوات الأولى لتخليق JA تحدث في الكلوروبلاست . هذا يصعب من تسوية التعارض مع تنشيط PLA2 الخلوية بواسطة MAPKs . من غير المعروف كذلك من نظم نمذجة أخرى أن MAPKs يمكن أن تنتقل من السييتوسول إلى العضيات .

هناك إشارة وسطية في الاستجابة للجروح تتمثل في أنواع الأكسجين المتفاعل (ROS) والتي يعتقد أنها تعمل ضد تيار JA وتنشأ بواسطة نشاط إنزيم NADPH

أكسيديز (Sagi et al. 2004) . حيث أن Le MPK 1-3 يعمل مع تيار JA فإنها قد تنظم كذلك تخليق ROS . من المعروف أن ROS عبارة عن منشطات MAPKs وقد تسبب تلف تأكسدي لمكونات التأشير التي تنظم MAPKs مثل البروتين فوسفاتيزيس . لكن فإن الميكانيكية الحقيقية لتنشيط MAPKs بواسطة ROS غير معروفة . استجابة للمثيرات الفطرية والتي توجه أو تدفع انفجار تأكسدي فإن MAPKs تنشط بشكل مستقل ROS . العكس صحيح حيث يوجد دليل للانفجار التأكسدي المستقل لـ MAPKs في تداخلات العائل - الفطر الخاص - النبات . لقد أدى ذلك جميعاً إلى الاقتراح بأنه على الأقل في بعض مسارات التأشير فإن نشاط MAPKs وتوليد ROS تحفز بالتوازي وقد تعمل استقلالياً لكل منها مع الآخر . هذا ولو أن علاقة ROS المحفزة بالجروح ونشاط MAPKs تبقى بدون حل .

الإدراك الحسي للسيستمين بواسطة SR 160 تحفز الالكة خارج الخلايا (EA) وتزامن فقد استقطاب الغشاء . استجابة الالكة ليست قاصرة على السيستمين ولكنها تحفز بواسطة أى إشارة إجهاد . هذا ولو أنه من غير المعروف ما إذا كانت تتابعات EA لغرض نقل الإشارات . انعكاس تدرج البروتون بواسطة منشطات إنزيم البروتون ATP ase في غشاء البلازما (PMA) تسوى تعبير الجين للسيستمين مما أدى إلى الاقتراح أن PMA ينظم درجة الحموضة خارج الخلايا استجابة للسيستمين . وأن EA عبارة عن حادثة إشارية ضرورية لاستجابة الجروح المحفزة بالسيستمين . لقد اقترح أن السيستمين يعطل نشاط PMA في طريق يعتمد على الكالسيوم عبر الفسفرة خلال البروتين كينيز المعتمد على الكالسيوم . توكسين الفطر المسمى فاسيكوكين (FC) والذي ينشط دائماً PMA يسبب حامضية خارج الخلايا ويثبط استجابة الجروح المحفزة بالسيستمين . بالإضافة إلى ذلك فإن استخدام C أدى إلى تعبير جينات PR . لقد أدى ذلك بالباحثين (1999) Sehallar and Oecking إلى الاقتراح بأن نشاط PMA يعمل محول بقدر ما إذا كانت استجابة جينات الجروح لجينات - PR سوف يعبر عنها .

حيث أن معظم مثيرات الإجهاد والإشارات التي تحفز EA تنشط كذلك MAPKs - A1 , A2 تتعجب ما إذا كانت EA والتتابعات مطلوبة لتنشيط MAPK والعكس صحيح . لقد تم إجراء تحليل مقارنة لتأثيرات pH ونشاط MAPKs استجابة للسيستمين والفيوسيكوكين . الفيوسيكوكين ينشط استجابة Le MPK1 ، ٢ ، ٣ المحفزة بالجروح / سيستمين مما يوضح أن كلا الالكة الخلوية والحامضية تؤدي إلى تنشيط نفس MAPKs هذا ولأن حركية تنشيط MAPKs كانت مميزة مع السيستمين تسبب نشاط MAPKs انتقالاً و Fe المطول . الاستخدام المترام للـ FC والسيستمين لم يؤدي إلى تغيرات فورية في الحموضة pH ولكن تؤدي إلى زيادة سريعة في نشاط MAPKs . لاختبار ما

إذا كانت التغيرات في pH خارج الخلايا يمكن أن لا تتزاوج من نشاط MAPKs حيث تم تبديل وسط النمو المجهز للخلايا المزروعة من المعلق لنباتات *L. Peruvianum* بيئة طازجة . هذا يؤدي إلى حموضة قوية للبيئة دون توافق مع نشاط MAPKs . أظهرت هذه التجارب جميعاً أن التغيرات في درجة الحموضة خارج الخلايا غير مطلوبة وغير كافية لنشاط MAPKs . لقد تم استبعاد الرأي بأن MAPKs ينظم EA . لذلك فإن نشاط MAPKs المحفز بالسيستيمين و EA يعمل في توازي وليس جزء من مسار التأشير الخطى الذى يحفز الاستجابة للجروح والتعبير الجيني (Higgins et al. 2007) .

السيستيمين مكون ضرورى فى استجابة الدفاع فى نباتات الطماطم ضد الحشرات الملتزمة للنباتات وهو مطلوب كذلك لتنظيم تخليق حمض الجسمونيك JA . حامض JA يعمل وظيفياً ليس كرسول ثانى داخل أو بين الخلايا فقط ولكنه يعمل كذلك كإشارة على مسافات طويلة عند حدوث الجروح . (Stramann 2003) . طفرات التخليق الحيوى لحامض JA والتأشير تتلف بشكل شديد فى المقاومة للحشرات آكلة النباتات . توافقا مع دور MAPKs فى تنظيم تخليق PA أتضح أن الخمود المرافق للـ Le MPK1 و LeMPK2 يحدث مقاومة شديدة ضد *M. Sexta* فى نباتات Prosystemin : 35 S . لقد أتضح أن يرقات هذه الحشرة تحفز نشاط Le MPK1 , Le MPK2 , Le MPK3 .

استجابة Le MPKs المحفزة بالجروح / سيستيمين تلعب دوراً كذلك فى مقاومة نباتات الطماطم للحشرات الثاقبة الماصة مثل المن . ميكانيكيات التلف التى تحدث بواسطة مسببات المن تختلف عن الحشرات القارضة فيما يتعلق بالمدى والطبيعة . مقاومة نباتات الطماطم للمن وبعض الذباب الأبيض وأنواع الئيماتودا تعتمد على جين *Mi - 1* . المقاومة التى تعال بجين *Mi - 1* تتطلب حامض ساليسيليك (SA) وتؤدي إلى تنظيم فائق لجينات PR المحفزة بحامض SA . هذا يعتبر تذكري لاستجابات دفاع الطماطم ضد الممرضات والتى تنظم بواسطة تيارات وسيول MAPKs . مشاركة MAPK (K) s فى مقاومة المن اختبرت بواسطة VIGS للـ Le MPK 1/2 و Le MKK2 . LeMPK3 . كل تكوينات VIGS الثلاثة تؤدي إلى زيادة معيشة المن على أوراق الطماطم مع التعبير بجين *Mi - 1* وأوضحت أن المقاومة التى تعال بواسطة *Mi - 1* للمن تنظم بواسطة شلال MAPKs هذه التقارير تمثل التحليل لفقد الوظيفة فقط مما يوضح أن وظيفة الكينيز كموكونات إشارية ضرورية فى استجابات دفاع النبات التى تحقق المقاومة ضد الحشرات آكلة النباتات .

كما ذكر سابقاً فإن MAPKs تحت مجموعة A1 , A2 ما هى إلا كينيزز عالية التشويش تستجيب فى الغالب لأى تشويش فى البيئة الخلوية LeMPK1 و ٢ يعمل كنقاط تشعب لمنشط الإجهاد والإشارات مثل الحشرات التى تتغذى على النباتات والجروح

والسيستيمين والسيستيمات الغنية بالهيدروكسي برولين ومثيلات الأوليغوسكريات والأشعة فوق البنفسجية B والإشعاع - ٢ (Holley et al. 2003) . استجابة أوراق الطماطم للإشعاع بالأشعة فوق البنفسجية - B (UV - B) مثير للاهتمام بالنظر لتخصصية والارتباط الداخلي لاستجابات الإجهاد المنظمة MAPK . بينما UV - B فقط يحفز بشدة تنشيط MAPK فإنه لا يحفز حامض ١٢ - أوكسو - فيتودانيويك وتكوين JA ولا تخليق مثبط بروتينيز . هذا ولو أن المنشط الطفيف للجرح إذا أعطى قبل التشعيع بأشعة UV-B يؤدي إلى تراكم جهازى تنشيطى لمثبطات البروتينيز . حيث أن تعبير جين مثبط البروتينيز يعتمد بشكل كبير على JA . فإن هذه التجربة أوضحت أن تنشيط MAPKs بواسطة UV-B غير كافية للوصول إلى تخليق JA وتعبير جين الدفاع . تجارب مشابهة على نباتات الدخان فى الحقل أظهرت أن الجينات المستجيبة للأشعة UV-B أظهرت تداخل قوى مع الجينات التى تحفز بالحشرات . مع أخذ كل النتائج فى الاعتبار يبدو أن تنشيط نفس MAPKs بواسطة إشارات الإجهاد المختلفة والمحفز يرتبط بواسطة الاستجابات للإشارة الخاصة وتتداخل مع استجابات الإجهاد الأخرى . لا توجد أى ميكانيكية لتعريف وشرح هذه الظاهرة .

٤- دور MPK 4 فى الاستجابة للجروح

MAPKs لتحت المجاميع A1 , A2 ليست هى MAPKs الوحيدة التى تستجيب للجروح . فى الأرابيدوبسيس فإن MAPK - B1 , At MPK 4 تنشط بالجرح أو اللمس (حركة خفيفة للنباتات بالأيدى) وبعض الإجهادات اللا حيوية . طفرات MAPK يصعب تعريفها فى اختبارات التعريف القياسية . لذلك يكون من المثير للدهشة أن طفرة mpK4 تم تعريفها خاصة مع اعتبار أنه يوجد مشابهاة At MPK 11 فى نفس تحت المجموعة و MPK5 , MPK12 فى اثنان إضافيان من تحت المجاميع لمجموعة B1 . عزل mpK4 أظهر كذلك أنه لا MAPKs - B1 ولا MAPKs لمجموعة - A ذات الاستجابة لعدد الإجهادات قادرة على تعويض فقد MPK 4 . طفرة mpK4 أكثر مقاومة للممرضات البكتيرية والفطرية البيضية بالمقارنة بالنباتات البرية . هذا يكون مصحوبا بتعبير تكوينى لجينات PR ومستويات SA المتزايدة التى تعتبر دليل عن المقاومة الجهازية المكتسبة المحفزة بالمرض (SAR) . SAR عبارة عن مقاومة عريضة المجال لمدى عريض من الممرضات الميكروبية . نباتات الطفرة mpK 4 كانت عدم الحساسية للمثيل جسمونات MeJA حتى فى النباتات المهندسة وراثيا التى تعبر بالجين Nah G- التى لا تراكم SA . لقد أظهر ذلك أن عدم الحساسية JA لا يتسبب بواسطة عبور بين JA - SA . طفرة mpK 4 أظهرت طرز فينولوجى قزمى ولكن تستجيب طبيعياً إلى معاملات إجهاد عديدة لا حيوية وللهورمونات النباتية . تأثير الطفرة كان

متخصصاً كما ثبت من التحليل الدقيق والتي وجدت عدد قليل من الجينات فقط والتي تأثرت تعبيراتها بالطفرة .

عدم حساسية نباتات 4 mPK لحمض الجسمونيك أدت إلى الاقتراح بأن وظائف 4 MPK يتمثل في اتجاه تأشير JA لتخليق JA على عكس مجموعة A لـ MAPKs والتي تعمل ضد تيار تخليق JA . من المثير للاهتمام عدم حل لغز العلاقة بين 4 MPK و E3 ليجيز SCF CoII والذي يعمل في اتجاه JA والذي ظهر حديثاً أنه يستهدف مخفضات تعبير الجين المحفز بحمض الجسمونيك للانهيال بواسطة البروتيسوم (Chini et al. 2007) . هذا ولو أن Petersen et al. (2000) لم يختبر ما إذا كانت طفرة الأرابيدوبسيس 4 mPK تظهر استجابة للجروح حيث تم دراسة ذلك في نباتات الدخان بواسطة (Gumi et al. 2005) Nt MPK الأورثولوج المزعوم في الدخان يمكن أن ينشط انتقالياً بواسطة جرح الورقة وعلى نفس المنوال لمجموعة MAPKs . نباتات NtMPK 4 – RNAi أظهرت طرز فينولوجي يشابه عن قرب الطرز الفينولوجي mPK4 في الأرابيدوبسيس مع تقزم وارتفاع مستويات SA وتعبير جينات PR استجابة لحامض السليليك SA . التعبير المحفز بالجروح للجين العلامة II – PI المستجيب للجروح انخفض بينما التعبير ADS لم يتأثر . لم يتم قياس مستويات JA في نباتات NtMPK4 – KNAi ولم تختبر ما إذا كان التعبير II – PI يمكن أن يعاد تخزينه في نباتات NtMPK4 – RNAi المعاملة بحامض الجسمونيك JA . من الأهمية بمكان الاستمرار في مثل هذه الدراسات لمعرفة ما إذا كانت MPK4 مطلوبة للدفاعات ضد الحشرات آكلة النباتات وكيف تعمل MPK4 مع MAPKs الأخرى التي تستجيب للجروح كي تنسق أو تؤلف الاستجابة للجروح .

الرؤى والمنظور

من المدهش أننا لا نعلم إلا القليل عن الفسفرة العكسية استجابة لهجوم وتغذية الحشرات . الدراسات التي تم تناولها في هذا الجزء تناولت دور MAPKs في دفاعات النباتات . لكن هذا الاستنتاج مبنى في معظمه على التجارب التي استخدمت الجروح الميكانيكية أو إشارات الجروح مثل السيستيمين . MAPKs المشترك في الاستجابات للمرضات اكتسبت كثير من الاهتمام بما فيها دراسات الفقد المتعدد وكسب الوظيفة وتفاصيل عن التحليل البيوكيميائي . لقد ذكر كاتب هذا الجزء أن معلوماته تشير إلى وجود دراستان فقط عن فقد وظيفة MAPKs والتي تتضمن الحشرات بشكل مباشر . في المستقبل يكون من الأهمية دراسة دور كل MAPKs بالتفصيل عن طريق تعريض النباتات المعدلة وراثياً للحشرات آكلة النباتات ومن الأهمية كذلك يوضح لاحقاً ما إذا كانت بعض وظائف MAPKs تشترك الدفاعات ضد كل أو ضد عدد محدود فقط من أنواع

الحشرات . دراسات فقد الوظيفة فيما يتعلق بالكينيزيس MAPKs في الطماطم أظهرت أن Le MPK1 ، ٢ ، ٣ هامة للمقاومة التي تعال بالسيستيمين ليرقات الحشرة القارضة M.Sexta والمقاومة المعالة بواسطة 1 - Mi للمنّ وطائفتان فقط من المتغذيات التي تسبب أنواع مختلفة كثيراً من الضرر وتحفز استجابات خلوية مميزة . من المعروف أن بعض الحشرات تحفز الدفاعات المباشرة وغير المباشرة عبر اقتران الحمض الدهني - الحمض الأميني (FACs) الموجود في إفرازات الفم أو القيء (Albom et al. 1997) من المثير للدهشة أن تجد أن FAC's تستخدم نفس مكونات التأشير كجروح ميكانيكية .

MAPKs المستجيبة للإجهاد لمجاميع A ، B1 يبدو أنها تمثل نقاط التنوع الكبرى للعديد من إشارات الإجهاد . فقد الوظيفة لهذه MAPKs لها نتائج كبرى للدفاعات والحماية ضد الإجهاد . إخماد SIPK ، WIPK وأورثولوجاتها في الطماطم جعلت النباتات ليست حساسة فقط للممرضات ولكن حساسة كذلك للحشرات القارضة والمنّ والإجهاد اللا حيوي (Del Pozo et al. 2004) . من جهة أخرى فإن دراسات كسب الوظيفة أظهرت وظيفة أكثر تخصصاً مثل ما يحدث في تحفيز الاستجابة فائق الحساسية . حيث أن مكونات التأشير التي تحفز بالممرض والجروح تتلاقى عبورياً فإن هناك ميل بأن التعبير الفائق لبعض MAPKs النشطة لن تزيد المقاومة للحشرات . ولو أن هذا لم يختبر بشكل مباشر حتى الآن .

استجابات الدفاع للجروح أو آكلات النباتات والاستجابات لمسببات الأمراض متميزة بشكل واضح ولكن كلاهما يعال بواسطة نفس MAPKs . لقد أدى ذلك إلى بروز تساؤل أساسي . كيف أن الإشارات تنتج بدقة وتخصصية فائق عبر هذه الكينيزيس المشوشة ؟ بالإضافة إلى ذلك هناك تساؤل آخر ألا وهو : ما هي الميكانيكيات الجزيئية التي تؤدي إلى استجابات خلوية من الإشارات الخاصة ؟ هذه من أهم المشاكل مثار الجدل في نقل ونسخ الإشارات في الحيوانات والخميرة (Sabbagh et al. 2001) . التفسيرات تبنى على أساس مفهوم شبكة الإشارات . في هذه الشبكة فإن مكونات التأشير الخاصة (فقط التقاء nodes) ترتبط داخلياً بشكل كبير وتستجيب لإشارات داخلية متعددة وترحل الإشارة إلى نقط التقاء متفاوتة مع التيار . MAPKs لمجموعة A- تمثل فقط التقاء بؤرية تستجيب لعدد كبير من الإشارات الداخلة . الميكانيكيات المرتدة الموجبة والسالبة فيما بين نقط الالتقاء تحول سلوك الإشارات وتكبير الإشارة تزيد من تعقيد الشبكة . هذا التعبير يمكن من الاستجابات المرنة وتكامل الإشارات المتعددة وهذا يمثل أهمية في ناحية الخلفية الطبيعية والتي فيها تجابه النباتات تحديثات متتابعة أو في تزامن مع مسببات الإجهاد المتعددة . لقد اقترحت العديد من الحلول لمشكلة دقة التأشير بناء على العمل نظم الخميرة أو الحيوانات . هناك بعض الأدلة التي تشير إلى إمكانية حدوث نفس الميكانيكيات في النباتات ولو أنها لم تفرز أو تثبت جيداً بوجه عام .

MAPKs تنشط سواء بطريق مطولة أو انتقالي . بالنسبة MAPKs الخاصة فى الثدييات فقد أتضح أن حركات تنشيط الكينيز تحدد الاستجابة الخلوية . عامل نمو العصب يحفز النشاط الممتد لـ MAPKs للثدييات ERK I , MAPKs ERK2 , وتفريق خلايا PC 12 فى الخلايا المشابهة لجسم العصب . على العكس فإن عامل نمو البشرة يحفز التنشيط الانتقالي ERK 1/2 وتكبير خلايا PC12 ولا يحفز التمييز أو التفريق . حركات التنشيط المختلفة تنشأ خلال تداخل التفريق لمستقبلات عامل النمو مع بروتينات التداخل والذى يقوم بدوره بتجميع معقدات تآشير ثابتة أو قصيرة العمر (Kao et al. 2001) .

MAPKs النباتية المستجيبة للضغوط أو الإجهادات معروف أنها تحدث حركات تنشيط مختلفة استجابة للمثيرات والمنبهات المختلفة . لقد أقتراح أن الإشارات المرتبطة بالجروح تؤدي إلى إشارات انتقالية ومرتبطة بالمرض مما أدى إلى تنشيط MAPK مطولة (Ren et al. 2002) . حركات التنشيط يبدو أنها وظيفة الإشارة المنشطة ، طبيعة التداخل بين مادة الربط والمستقبل ونشاط النسخ والنقل اللاحق لـ MAPKs والتنظيمات السالبة مثل البروتين فوسفاتيزيس . بالإضافة إلى ذلك فإن النصوص الراجعة السالبة والموجبة تؤثر على الحركات المنشطة . لقد أتضح أن شلالات MAPKs المحفزة بالسيستيمين تدخل فى حالة استقطاب بعد التنشيط الابتدائي مما يوضح وجود منظمات انتقالية سالبة للشلال (Bogre et al. 1997) . هذا السلوك يوضح أن النشاط المؤازر وتحفيز MAPKs يمنع بكفاءة على الأقل استجابة للإشارات المرتبطة بالجروح . ولأنه لم تظهر أية ميكانيكية فى النباتات تشرح كيف أن حركات تنشيط MAPK تستقرأ بواسطة شبكة التأشير كى تؤدي إلى استجابات خلوية خاصة .

التداخل مع البروتينات الأخرى تغير أو تعول من نشاط MAPKs أو تحدد تخصصية التأشير . هناك أمثلة من الحيوانات والخميرة عبارة عن بروتينات عامة والتي تتداخل مع MAPKs . تيار MAPK يجمع بواسطة شد أو تطويل MAPK خاصة إلى البروتين المشدود والتي تتداخل كذلك مع MAPKKs و MAPKKKs . لقد وضع ذلك التأشير بدقة عن طريق استبعاد MAPKs المنافسة . حيث أن بروتينات الخميرة والحيوانات لا توجد فى النباتات لا يعرف ما إذا كانت نفس الميكانيكيات تستخدم فى النباتات لدمج مكونات الشلال . هذا ولو أن AMAPKKK من البرسيم أتضح أنه يتداخل مع MAPK مما أدى إلى الاقتراح بأن MAPKKK نفسه قد يعمل كشداة .

الطريق الآخر لخلق استجابات خاصة عبر شبكة الإشارات ما يتمثل فى التنشيط التفريقى وعدم تنشيط نقط الاتصال المتعددة التى تستجيب لإشارات داخلية متعددة . كمثال MAPKs من المجموعة A- والاثيلين وأنواع الأكسجين النشيطة المتفاعلة وأيون

الكالسيوم Ca^{+2} وتدفقات البروتون المشتركة في معظم وأى مسار تأشير من الإجهاد . كل إشارة داخلية منفردة لها جهد لتنشيط كل هذه الإشارات الوسيطة وناقلات الإشارة في أى مسار داخل ممر خاص عبر التداخلات الخاصة مع المستقبلات التى تخلق نظام خاص من نشاط الشبكة . المدخل المعال بالمستقبل - البصمة الإشارية الخاصة ينعكس فى حركات واتساع نشاط أماكن الالتقاء الفردية . هذا السيناريو يشرح عدم توافق تجارب مكسب وفقد وظيفة MAPK . كلا الاقترابات تشوش وبشدة شبكة الإشارات بواسطة التنشيط الفائق أو خلل نقطة الالتقاء المركزية . لذلك فإن اقترابات فقد ومكسب الوظيفة قد يحقق معلوماتية فى بعض الأحيان بالنظر إلى مرتبة نقطة الاتصال داخل شبكة الإشارات الخلوية عما هو الحال مع وظيفة نقاط الاتصال الفردية استجابة لإشارة داخلية خاصة . من الضروري فى المستقبل لاكتمال هذه الدراسات مع تحليلات تفصيلية بيوكيميائية والتى تتناول حركات التداخلات بين نقاط الاتصالات الإشارية . التقدم الحديث فى الفوسفو بروتيوميك (Peck 2000) Phosphoproteomics والطرق المستخدمة فى دراسة التداخلات بين البروتين - بروتين ستظهر ديناميكية التحويرات ما بعد الترجمة وكذلك تجمع معقد البروتين وعدم التجمع فى شبكة الإشارات استجابة لمختلف الإشارات الداخلة بما فيها آكلات النباتات . هذا يتضمن كذلك توصيف المعايير الإنزيمية الغير معروفة بشكل واضح مع MAPKs النباتية مع قليل من الاستثناءات . لقد استخدمت هذه البيانات لعمل نموذج استجابة شلالات MAPK الحيوانية التى أظهرت أن شلالات MAPK تعمل على التحويل أكثر منها فى تكبير الإشارة .

التقسيم لأجزاء وتعبير الأنسجة الخاص قد يساهم لاحقاً وإضافياً فى تخصصية الإشارات . فى الوقت الحالى لم يوضح ذلك مع معظم MAPKs ولو أن بعض MAPKs معروف عنها أنها تغير فى العديد من أنواع المختلفة الأخرى (Ren et al. 2006) . بمجرد حدوث التنشيط فإن بعض MAPKs تنتقل من السيتوسول إلى الأنوية لتنشيط النسخ . البعض الآخر يظل موجوداً بشكل دائم فى الأنوية أو ينتقل من الأنوية إلى السيتوسول . MAPKs يمثل لإظهار تخصصية عريضة فى الوسائط ولكن تداخل أكثر تخصصية من وسط MAPK قد يتحدد بواسطة تيسر الوسيط الخاص فى الأجزاء المقسمة.

References

- Ahlfors R, Macioszek V , Rudd J , Brosche M , Schlichting R , Scheel D , Kangasjarvi J (2004) Stress hormone – independent ctivation and nuclear translocation of mitogen – activated protein kinases in Arabidopsis thaliana during exposure . Plant J 40 : 512 – 522

- Birkenmeier GF , Ryan CA (1998) Wound signaling in tomato plants . Evidence that ABA is not a primary signal for defense gene activation . plant physiol 117 : 687 – 693
- Cazale AC , Droillard MJ , Wilson C, Heberle – Bors E, Barbier – Brygoo H , Lauriere C (1999) MAP kinase activation by hyposmotic tobacco cell suspensions ; towards the oxidative burst response ? plant J 19 : 297 – 307
- Doares SH , Narvaez – Vasquez J , Conconi A, Ryan CA (1995) Salicylic acid inhibits synthesis of proteinase inhibitors in tomato leaves induced by systemin and jasmonic acid . plant physiol 108 : 1741 – 1746
- Ekengren SK, Liu Y , Schiff M , Dinesh – Kumar SP , Martin GB (2003) Two MAPK cascades , NPR1 , and TGA transcription factors play role in pto – mediated disease resistance in tomato . plant J 36 : 905 – 917
- Felton GW , Korth Korth KL , Bi JL , Wesley SV , Huhman DV , Mathews MC , Murphy JB , Lamb C, Dixon RA (1999) Inverse relationship between systemic resistance of plants to microorganisms and to insect herbivory . Curr Biol 9 : 317 – 320
- Gomi K , Ogawa D , Katou S , Katou S, Kamada H , Nakajima N , Saji H , Soyano T , Sasabe M , Machida Y , Mitsuhashi I , Ohashi Y , Seo S (2005) A Mitogen – activated protein kinase NMPK 4 activated by SIPKK is required for jasmonic acid signaling and involved in ozone tolerance via stomatal movement in tobacco , plant Cell physiol 46 : 1902 – 1914
- Hirt H (1999) Transcriptional upregulation of signaling pathways ; more complex than anticipated ? Trends plant Sci 4 : 7 – 8
- Ichimura K , Mizoguchi T , Yoshida R, Yuasa T , Shinozaki K (2000) Various abiotic stresses rapidly activate Arabidopsis MAP kinases ATMPK 4 and ATMPK6 . plant J 24 : 655 – 666
- Kim CY , Liu Y , Thorne ET , Yang H , Fukushiges H , Gassmann W, Hildebrand D , Sharp RE , Zhang S (2003) Activation of a stress – responsive mitogen – activated protein kinase cascade induces the biosynthesis of ethylene in plants . plants cell 15 : 2707 – 2718
- Li C , Williams MM , Loh Y –T , Lee GI , Howe GA (2002a) Resistance of cultivated tomato to cell content – feeding herbivores is regulated by the octadecanoid – signaling pathway . plant physiol 130 : 496 – 503
- Lin Y, Jin H , Yang KY , Kim CY , Kim CY , Baker B . Zhange S (2003) Interacion between two mitogenactivated protein kinases during tobacco defense signaling . Plant J 34 : 149 – 160

- Malone M (1996) Rapid , Long – distance signal transmission in higher plants In : Callow JA (ed) *Advances in Botanical Research* . Academic Press , San Diego , pp 163 – 228
- Nakagami H , Kiegl S, Hirt H (2004) OMTKI , a novel MAPKKK , channels oxidative stress signaling through direct MAPK interaction . *J Biol Chem* 279 : 26959 – 26966
- O' Donnell PJ , Calvert C , Atzom R , Wasternack C , Leyser HMO , Bowles DJ (1996) Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants . *Science* 274 : 1914 – 1917
- Petersen M , Brodersen P, Naested H , Andreasson E , Lindhart U , Johansen B , Nielsen HB , Lacy M , Austin MJ , Parker JE , Ehama SB , Klessig DF , Martienssen R , Mattsson O , Jensen AB , Mundy J (2000) *Arabidopsis* MAP kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance . *Cell* 103 : 1111 – 1120
- Reymond P , Weber H , Damond M , Farmer EE (2000) Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis* . *plant cell* 12 : 707 – 720
- Seo S , Okamoto M , Seto H , Ishizuka K, Sano H , Ohashi Y (1995) Tobacco MAP kinase ; a possible mediator in wound signal transduction pathways , *Science* 270 : 1988 – 1992
- Stratmann JW , Ryan CA (1997) Myelin basic protein kinase activity in tomato leaves is induced systemically by wounding and increases in response to systemin and oligosaccharide elicitors . *proc Natl Acad Sci USA* 94 : 11085 – 11089
- Thompson GA , Goggin FL (2006) Transcriptomics and functional genomics of plant defence in duction by phloem – feeding insects , *J Exp Bot* 57 : 755 – 766
- Wildon DC , Thain JF , Minchin PEH , Gubb JR , Reilly AJ , Skipper YD , Doherty HM , O'Donnell P?J , Bowles DJ (1992) Electrical signaling and systemic proteinase inhibitor induction in the wounded plant . *Nature* 360 : 62 – 65
- Xu Q , Fu HH , Gupta R , Luan S (1998) Molecular characterization of a tyrosine – specific protein phosphatase encoded by a stress – responsive gene in *Arabidopsis* . *plant Cell* 10 : 849 – 857
- Yalamanchili RD , Stratmann J (2002) Ultraviolet – B activates components of the systemin signaling pathway in *Lycopersicon peruvianum* suspension – cultured cells , *J Biol Chem* 277 : 28424 – 28430
- Zhang S , Klessig DF (1997) Salicylic acid activates a 48 – KD MAP kinase in tobacco . *plant cell* 9 : 809 – 824

ثالثاً : التخليق الحيوي للجسمونات والإشارات لتحفيز دفاع النبات ضد آكلات النباتات

Jasmonate Biosynthesis and Signaling for Induced plant Defense against Herbivory

Andreas Schaller and Annick Stintzi

الجاسمونات عبارة عن قسم متنامي من جزيئات التأشير وهورمونات النبات والتي تستق من أحماض دهنية عديدة غير مشبعة عبر مسار أوكتاديكا نويد وتتميز بوجود تركيب حلقي خماسي الكربون . حتى وقت قريب كان يعتقد أن حمض الجاسمونيك هو الناتج النهائي لهذا المسار وهو هورمون حيوي نشط . لقد أصبح من الواضح أن النشاط الحيوي ليس محددًا على حمض الجاسمونيك ولكنه يمتد وحتى يختلف في العديد من نواتج التمثيل والمقترنات وكذلك في بادئات التخليق الحيوي . على غرار الهورمونات النباتية الأخرى فإن الجسمونات يظهر مدى عريض من الأنشطة الفسيولوجية تتراوح من إنبات البذور وحتى تطور التكاثر وجميع المسالك إلى الشيخوخة . الجسمونات تلعب أدوراً هامة كجزيئات إشارية في دفاع النبات خاصة الدفاع ضد الحشرات آكلات النباتات والممرضات القاتلة . في هذا المقام سوف نتناول باختصار كل خطوة في مسار أوكتاديكانويد مشيرين إلى أي الخطوات وثيقة الصلة بتنظيم التخليق الحيوي لحمض الجاسمونيك والرؤى المتحصل عليها حديثاً فيما يتعلق بالتركيب البللوري لاثنتان من إنزيمات هذا المسار . بالنظر إلى إشارات الجسمونات سوف نركز على دورها كجزيئات إشارية في استجابة الدفاع الجهازية ضد الحشرات آكلة النباتات وتنشيط التعبير عن جينات الدفاع التي تعتمد على الجسمونات .

A. Stintzi

University of Hohenheim , Institute of plant physiology and Biotechnology , D – 70599 Stuttgart , Germany

e-mail : stintzi@uni-hohenheim.de

A. Schaller (ed.), Induced plant Resistance to Herbivory © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١ - مقدمة

منذ تعريف المثيل جسمونات (Me JA) كناتج تمثيل ثانوي في الزيوت الضرورية للجسمين عام ١٩٦٢ (Demole et al . 1962) تم اكتشاف العديد من المركبات المرتبطة في مدى عريض من النباتات ويشار إليها جميعاً بالجسمونات . الجسمونات

تتقاسم أصولها في التخليق الحيوي من الأحماض الدهنية الأوكسجينية عديدة عدم التشبع والحلقة الخماسية الإحلالية كعنصر تركيبي شائع . في بداية الثمانينيات فإن حدوثها العريض خلال المملكة النباتية وتثبيطها للنمو والأنشطة الخاصة بتحفيز الشيخوخة تم تأكيده. أول الدلائل عن دور الجسمونات في تنظيم التعبير الجيني تحصل عليها بواسطة Parthier ومعاونوه الذين لاحظوا تراكم البروتينات المحفزة للجسمونات (JIPs) في أوراق الشعير التي شاخت . العمل الرائد الذي قام به Farmer and Ryan أظهر لاحقاً أن Me JA وحمض الجسمونيك (JA) يحفز تراكم مثبطات البروتينيز كوسيلة دفاع مباشرة ضد الحشرات آكلات النباتات . بعد وقت قصير تأكد أن الجسمونات تعمل تراكم المحفز المثير للأكسينات النباتية المضادة للميكروبات في المزارع الخلوية وتحفيز بروتينات التخزين الخضرية في فول الصويا والأرابيدوبسيس . هذه المخرجات نشطت الاهتمام بالجسمونات كقسم جديد لجزيئات التأثير في دفاع النبات ضد الحشرات ومسببات الأمراض .

في السنوات اللاحقة تم توصيف عدد ضخم من الطفرات والتي تفسد في أي من تخليق الجسمونات أو الاستجابة وقد تم التأكيد على وظيفتها كمنظمات دفاع نباتية . الطفرات التي تضار في أداء وتأثير الجسمونات تتضمن طفرات Coil و Jin 1 و Jai 3 في الأرابيدوبسيس (Feys et al. 1994) و Coil في الدخان و Jai 1 في الطماطم وقد فشلت في تحقيق استجابات دفاعية مناسبة . كذلك وجد أنه مع تحفيز استجابات الدفاع تلك الطفرات ناقصة بادئات الحمض الدهني عديد التشبع للجسمونات (طفرات Fad 3 Fad 7 و Fad 8 و Spo 21 Fad 7 في الأرابيدوبسيس والطماطم والطفرات التي تأثرت في مسار أوكتاديكانويد للتخليق الحيوي للجسمونات مثل ecx 1/5 , aas , Ded 1 و Jar 1 في الأرابيدوبسيس و Def 1 في الطماطم و Jard في الدخان .

بالإضافة لكونها منظمات دفاعية فإن توصيف التخليق الحيوي وأداء الطفرات تم وضعه بالجسمونات كهورمونات نباتية في تطور تكاثر النبات . العديد من طفرات الأرابيدوبسيس تعقم الذكور بسبب القصور والضرر في نضج البذور وحبوب اللقاح (Sanders et al. 2002) بينما القصور في مكافحة الأبوين لنضج البذور يبدو أنها تسبب Jai 1 في الطماطم (Li et al. 2004) . من العمليات الأخرى للتطور المنظم بالجسمونات تلك التي تشمل نمو الجذور ، تطور الأشواك الغدية ، تكوين الدرنات ، تميز وتفرق Laticifer وإنبات البذور وتخصيص الكربون / النتروجين والشيخوخة .

من الدراسات المرجعية التي نشرت حديثاً عن التخليق الحيوي للجسمونات ونشاطها خاصة ما يتعلق بالإسهام في تنظيم استجابات الدفاع في النبات :

(Blee 2002 ; Liechti and Farmer 2002 ; Halitschke and Baldwin 2004 ; Howe 2004 ; Pozo et al . 2004 ; Schaller et al . 2004 ; Browse 2005 ; Lorenzo and Solano 2005 ; Schilmiller and Howe 2005 ; Delker et al . 2006 ; Wasternack 2006 ; Cheong and Choi 2007 ; Wasternack 2007) , and We .

٢ - التخليق الحيوي للجسمونات

التخليق الحيوي للجسمونات والعديد من الأوكسي ليبتينات الأخرى تبدأ بواسطة إنزيمات ليبوكسي جينيزيس (LOX s) والتي تساعد وتحفز الديوكسنة الفراغية الاختيارية والمكانية للأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة . حامض لينوليك (١٨ : ٢) وحمض اللينولينيك (١٨ : ٣) تتأكسد بواسطة LOX s خاصة عند C9 وحتى C13 لإنتاج (95) - (135) - هيدروبيروكسي - أوكتاديكانويد (ثراي) والتي تغذى في سبعة مسارات بديلة على الأقل تؤدي إلى تكوين أنواع كبيرة من الأوكسي ليبتينات (Blee 2002) . الخطوة الأولى في المسارين المتوازيين للتخليق الحيوي لحمض الجسمونيك (الشكل ٩-٣) . مثل مسار أوكتاديكانويك من ١٨ : ٣ ومسار هكساديكانويك من ١٦ : ٣ وهي تجري بواسطة اللين أوكسيد سينسيز (AOS) وهو سيتوكروم P450 غير عادي والذي يستخدم وسيط هيدروبيروكسيد كمصدر لخفض التكافؤات وكمائح للأكسجين ومن ثم يكون استقلابياً عن الأكسجين الجزيئي و AOS , NAD (p) H يحفز فقد ماء -13(S) hydroperoxy - octadecatrienoic acid (13 - HPOT) لتكوين اللين أوكسيد غير ثابت (12 , 13 - EOT) epoxy - octadecatrienoic acid (12 , 13 - epoxy - octadecatrienoic acid) في الوسط المائي فإن 12 , 13 Eot تتحلل بسرعة إلى @ و Y - كيتولات أو تتجه نحو تكوين الحلقية لتكوين ٢- أوكسيد - فيتودانيوبك أسيد (OPDA) . على عكس الحلقية اللحظية التي تؤدي إلى تكوين أزواج المشابهات الضوئية النقية 135 , 95 . قصر نصف فترة الحياة حامض 12 , 13 - EOT في الوسط المائي (26 s at D⁰C , PH6.7) والنقاوة الضوئية للـ OPDA مما أدى إلى الاقتراح بحدوث أزواج محكم لتفاعلات AOC , AOS في الداخل . هذا ولو أن التلامس الطبيعي للـ AOC , AOS في معقد الإنزيم لا يبدو مطلوباً للسيطرة الفراغية الكيميائية لتفاعل الحلقية (Zerbe et al. 2007) .

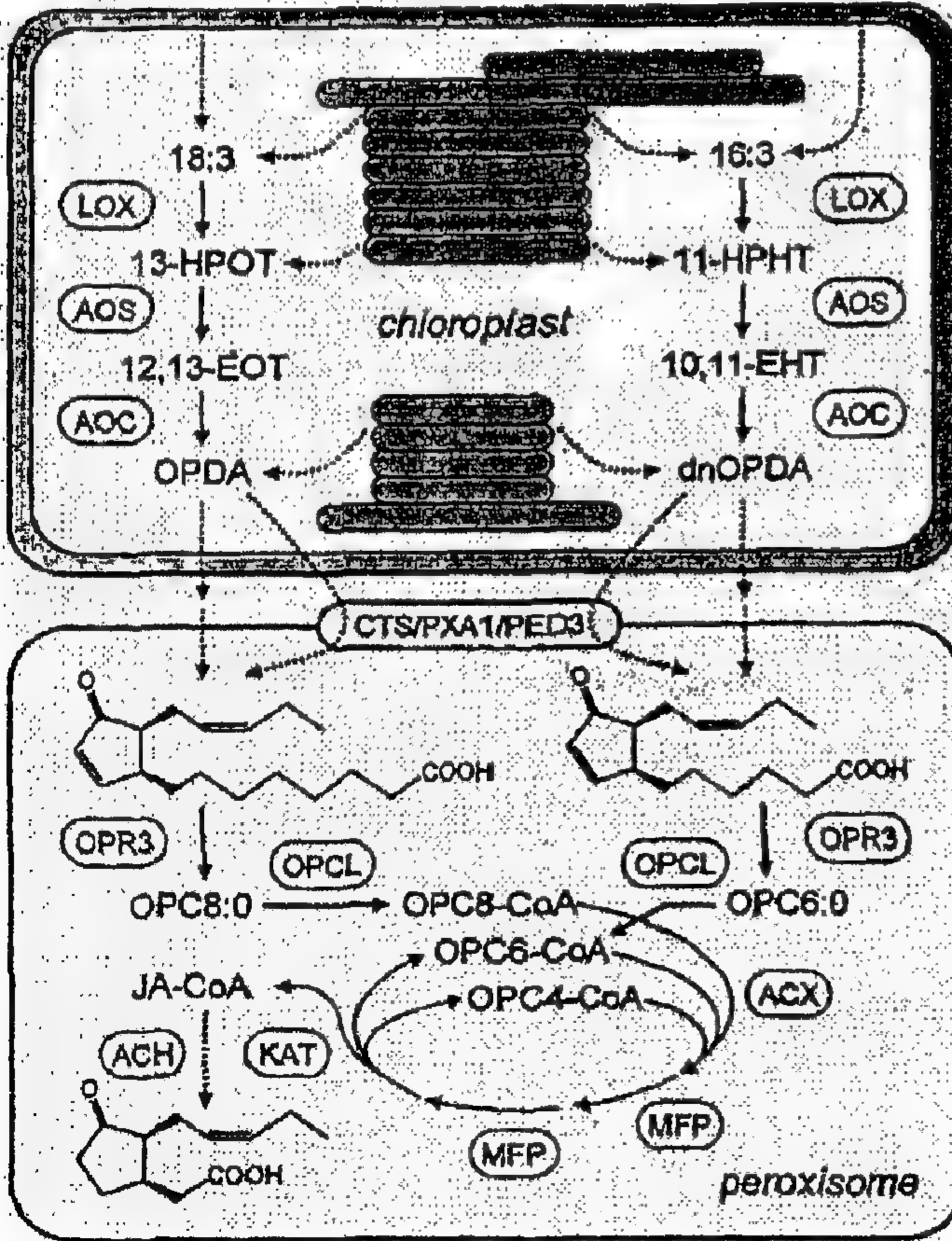
OPDA - 135 , 95 فقط تمثل واحد من أربعة مشابهات فراغية ممكنة وهي بادئ لحمض الجسمونيك JA النشاط بيولوجياً . AOC يمثل أهمية كبيرة لعمل التركيب المقارن Enantiomeric لحلقة سيكلوبنتينون . التركيب البلوري لمركب AOC2 في الأرابيدوبسيس أزاح العتمة عن كيف أن الإنزيم يتحكم فراغياً وكيميائياً عن تفاعل الحلقية (Hofmann et al. 2006) . إذا أخذ في الاعتبار حقيقة أن الحلقية تحدث تلقائياً . لحظياً

في المحلول المائي كما أن AOC2 لا تحتاج إلى كثير من المحفزات فيما يتعلق بخفض حاجز طاقة النشاط . في الحقيقة فإن ارتباط الوسيط أو الحالة الانتقالية لا يتضمن أى تقنية لتحفيز اللياقة . بيئة البروتين الكاره للماء والقليل جداً من التداخلات الأيونية مع بقايا الجلوتامات (Glu 23) وجزء الماء المرتبط بإحكام تؤكد الارتباط وتصحح وضع الوسيط EOT 12 , 13 . القيود الإستراتيجية التي ترتبت بواسطة بيئة البروتين تدفع وتعصد التغيرات المتطابقة الضرورية لذيل ايدروكربون الوسيط مما يؤدي إلى نشاط فراغى مطلق للـ AOC2 المعال كعكس لتفاعل الحلقة الكيميائية .

الدور السالب لمركب AOC2 في التخليق الفراغى الاختبارى لمركب 95135 - OPDA ما هو إلا تذكري للبروتينات القابلة للتوجيه والطريق الذى فيه تقوم بتحفيز التكوين الفراغى الاختبارى للارتباطات . تكوين الروابط يتضمن ازدواج تاكسدى متحكم فيه فراغياً كيميائياً لاثنيين من الفينولات مثل تكوين (+) بينوريسينوى من جزئيان من كحول كونيغريل (Dauin et al. 1997) . فى غياب البروتينات الموجهة والرنين - وسائط الفينوكسى الأساسية المثبتة تزدوج عشوائياً لتكون مخلوط من الارتباطات الراسيمية . البروتينات الموجهة التى تعاني من نقص مركز التحفيز يعتقد أنها تربط وتوجه

الوسائط الأساسية الحرة بما يسمح بحدوث الازدواج الفراغى الاختبارى (Devin et al. 1997) .

من المثير للاهتمام أن كلا البروتينات الموجهة و AOC2 عبارة عن أفراد متباعدة لعائلة الليوكالين (Charron et al. 2005) . الليوكالينات عبارة عن بروتينات أسطوانية - بيتا تحدث فجوة مركزية كارهة للذوبان فى الماء لارتباط جزيئات صغيرة محبة للدهون مثل الاستيرويدات والفورمونات ومواد الرائحة والريتينويدز . فى الحقيقة فإن معظم



الليبوبكالينات لا تعمل كإنزيمات ولكن كروابط بروتينية في الشم ونقل الفورمون ونقل الريبوتينول وتلويين مخفى في اللا فقاريات . على نفس المنوال فإن البروتينات الموجهة و AOC2 تعمل كبروتينات رابطة للبادئات المحبة للدهون غير الثانية (شقوق الفينوكسى وأكاسيد الأليلين على التوالى) لإحداث السيطرة الفراغية الكيميائية في تخليق الروابط و OPDA .

شكل (٩-٣) : التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك . الأحماض الدهنية عديدة عدم التشبع (3 : 16 & 3 : 18) ما هي إلا بادئيات للتخليق الحيوى لحمض الجسمونيك عبر مسارات الأوكتا والهكساديكانويد على التوالى . الخطوات الثلاثة الأولى تقع فى البلاستيدات وتؤدى إلى تكوين ١٢ - أوكسوفيتوديكانويك (OPDA) والديز . ١٢ - أوكسوفيتوديكانويك أسيد (du OPDA) . الخطوات المتتابعة تتضمن اختزال OPDA (duOPDA) إلى (OPC 6 : 0) (OPC 68 : 0) متبوعة بثلاثة (أو اثنين) من حلقات الأكسدة - بيتا مما يؤدى إلى إنتاج حمض الجسمونيك فى البيروكسيسومات . الأسهم والأسهم المقطعة تستخدم للفرقة بين التفاعلات الموصفة جيداً وتلك الخطوات التى مازالت فى نطاق الفرضية والتى لها تبقى الإنزيمات المناظرة فى حاجة للتعريف .

تكوين OPDA - 135 , 95 كأول فرد فى عائلة الجسمونات ذات النشاط الإشارى أدى إلى الاستنتاج بأن الجزء الواقع فى مسار البلاستيد للأوكتا (هكسا) ديكانويد . لا يعرف إلا القليل عن كيف ينتقل OPDA (و dn OPDA) من البلاستيدات إلى البيروكسيسومات حيث تحدث الخطوات النهائية للتخليق الحيوى لحامض الجسمونيك . حديثاً اتضح أن ناقل ABC والمعروف COMATOSE (CTS تعرف كذلك PXA1 أو PED3 يشترك فى هذه العملية) . CTS يحفز الاستيراد المعتمد على ATP للأحماض الدهنية فى بيروكسيسومات كوسائط للأكسدة - بيتا . طفرة Cts تخفض مستويات JA وهى تتلف فى تراكم JA المحفز بالجروح وتعبير عن جين VSP 1 المعتمد على JA عند مستوى منخفض مما أدى إلى الاقتراح بأن CTS ينقل الوسائط لتخليق JA فى البيروكسيسومات وفى الغالب OPDA (du) أو استرات COA المناظرة . هذا ولو أن مسارات أخرى لاستيراد OPDA (dn) يجب أن توجد كما أتضح بواسطة المستويات الباقية لحمض الجسمونيك JA ونقص أعراض نقص JA (مثل تعقيم الذكور) فى طفرة Cts . لقد اقترحت مسارات إضافية لاستيراد الحمض الدهنى فى البيروكسيسومات بواسطة الانتشار أو بواسطة ميكانيكية أخرى غير معروفة بواسطة (Fulde et al. 2004) . بسبب درجة الحموضة العالية فى البيروكسيسومات بالمقارنة

بالسيتوبلازم والأحماض الضعيفة تنبأ باصطيادها في البيروكسييمات كانيونات وهذا قد يحدث مع بعض استيراد OPDA (du) (Theodoulou et al. 2005) .

إذا حدث اختزال داخل البيروكسييمات لمركب OPDA - 135 , 35 بواسطة إنزيم ١٢- أوكسوفيتودايونات ريدكتيز (OPR 3) لإنتاج ٣- أوكسو - ٢ (٢) (Z) - بنتينيل) - سيكلوبنتان - s - أوكتانويك أسيد (OPC - 8 : 0) , du OPDA يختزل لمشتق حمض هكسانويك المقابل (OPC - 6 : 0) (الشكل ٩-٣) . الخصائص الإشارية للجسمونات تحمل حلقة سيكلوبنتينون (OPDA , du OPDA) وهي تتميز بوضوح من حامض الجسمونيك JA ومشتقاته التي تتميز بواسطة حلقة السيكلوبنتانون المختزلة (Taki et al. 2005) . OPR3 قد يكون هاماً بوجه خاص لتنظيم المستويات النسبية لهذين القسمين من جزيئات الإشارات .

حتى OPR3 تنتمي لعائلة صغيرة من أوكسي دوريدكتازيس التي تعتمد على الفلافين (على الأقل ثلاثة في الطماطم ، ستة جينات في الأرابيدوبسيس وستة في البسلة وثمانية في الذرة وعشرة في الأرز) وهي تعمل وظيفياً بشكل متميز كما تأكد من دليل أعراض نقص JA (تعقيم الذكور) لطفرة OPR 3 يفقد الوظيفة في الأرابيدوبسيس . الدليل الوراثي يتوافق مع بيانات النواحي البيوكيميائية والتركيبية والتي أدت إلى الاقتراح بأن OPRs تحفز اختزال الكربونيل غير المشبعة @ و B (الانيونات المقترنة) بينما OPR3 فقط واركولوج الأرز Os OPR 7 قادرة على اختزال الاقران 135 , 95 لمركب OPDA لذلك فإن هذه هي OPRs فقط التي تساهم في التخليق الحيوي لحمض الجسمونيك JA . صور مشابهاة OPR 1 من الأرابيدوبسيس والطماطم والأرز من جهة أخرى أتضح أنها تختزل العديد من الانيونات المقترنة بما OPDA - 13R , 9R ولكنها لا تقبل OPDA - 135 , 95 البادئ للنشاط الحيوي لحمض الجسمونيك (Strossner et al. 2002) .

حديثاً تم تحليل التركيب البلوري وتحصل على رؤى عن ميكانيكات اختزال الوسيط والاختلافات الواضحة في التخصصية الفراغية بين OPR1 , OPR3 (Fox et al. 2005) . توافقاً مع ميكانيكية التفاعل المقترحة المرتبطة بالإنزيم الأصغر القديم من الخميرة فإن شق الكربونيل للوسيط يكون روابط ايروجينية مع اثنين من بقايا الهستيدين (في طماطم OPR1 - His 187 and His 197) والتي تؤدي إلى استقطاب الرابطة الزوجية @ و B . بالتتابع فإن نقل الهجين من العامل المرافق الفلافين المختزل إلى الوسيط CB يحدث بسهولة متبوعاً بإدخال البروتونات للوسيط C& بواسطة بقايا التيروسين . مقارنة تراكيب OPR1 و OPR3 أظهر فجوة لموقع نشط أكثر انفتاحاً في ORR3 وهذا يفسر تخصصية الأكثر مرونة بما يسمح باختزال كلا مشابهاة 95 ,

135) و (9R , 13R) للـ OPDA . هناك اثنان من البقايا في OPR1 وهما Tyr 78 و Tyr246 ويبدو أنها تعمل كبوابات وتقرب الموقع النشط وتسدد دخول - 95,135 OPDA (Breithaupt et al. 2001) .

تقصير السلاسل الجانبية لحامض هكسانويك وحامض أوكتانويك في 0 : 6 - OPC و 0 : 8 - OPC لإنتاج حمض الجسمونيك JA تتضمن اثنين أو ثلاثة دورات الأكسدة بيتا على التوالي . قبل الدخول في دورة الأكسدة - بيتا فإن الشق الكربوكسيلي يحتاج للتنشيط كاستر COA . التعبير المرافق مع الجينات المعروف اشتراكها في التخليق الحيوي أدى إلى الاقتراح بأن At 1920510 وهو فرد من عائلة الإنزيمات التي تنشط بالـ ATP المعتمد على الأسيل كمركب لإنزيم Acyl - COA المطلوب . لقد وجد أن الإنزيم المندمج أو المدمج ينشط OPDA , 0 : 8 - OPC في الخارج وكذلك كوسط للأحماض الدهنية ذات السلسلة المستقيمة الطويلة (Koo et al. 2006) . فقد وظيفة الطفرات في نباتات الأرابيدوبسيس تراكم حمض جسمونيك أقل في استجابة للجروح الميكانيكية مما يعطى دليل مباشر عن دوره في التخليق الحيوي للجسمونيك أسيد . التراكم الغائق للـ 0 : 8 - OPC في الطفرات عديمة الوجود كوسيط فسيولوجي وأطلق على الإنزيم OPC - 8 : 0 COA ligase (OPCL1) . لقد اقترح إنزيم قريب الارتباط به (At4905160) بواسطة Schneider et al. (2005) كزميل لإنزيم 0 : 6 - OPC COA ligase . توافقا مع هذا الدور فإن الإنزيم يقع في بيروكسيسومات وتعبيره يحفز بواسطة Me JA . هذا ولو أن الإنزيم المدمج يفضل وسط به سلسلة الأحماض الدهنية أعلى من 0 : 6 - OPC كوسائط في الخارج والطفرة المقابلة لفقد الوظيفة أظهرت مستويات من JA للنوع البري . إسهام هذه المستويات في التخليق الحيوي لحمض الجسمونيك مازالت محل تساؤل .

الأكسدة - بيتا نفسها تتضمن ثلاثة إنزيمات محورية هي : acyl - COA أوكسيديز (ACX) ، بروتين متعدد الوظائف (MFP يحقق enol - COA هيدراتيز وبيتا - هيدروكسي أسيل - COA ديهيدروجينيز) و ٣ - كيتو أسيل COA ثيوليز (الشكل ٩ - ٣) . بالرغم من المخرجات المبكرة عن دور الأكسدة - بيتا في التخليق الحيوي لحمض الجسمونيك JA فإن الدليل المباشر لإسهام هذه الإنزيمات تحصل عليه حديثا جداً . لقد اتضح أن Acx1A يحفز الخطوة الأولى في الأكسدة - بيتا للمركب - 0 : 8 - OPC COA ووجد أنه مسئول عن معظم إنتاج JA المحفز بالجروح في الطماطم - توافقا مع دوره الضروري في التخليق الحيوي لحمض JA فإن طفرة الطماطم acx1 تلفت في نشاط جين الدفاع المحفز بالجروح ومقاومة الحشرات (Li et al. 2005) . في نباتات الأرابيدوبسيس فإن ACX1 مسئول عن حوالي ٨٠% من إنتاج JA بعد حدوث الجرح

وأن الطفرة المزدوجة $1/5$ acx أظهرت سمات النقص الشديد في JA بما فيها إبطال مقاومة الحشرات وخفض تناسل الذكور . كذلك وجد أن aim 1 في الأرابيدوبسيس التي تختل في واحد من اثنين من جينات MIP وهو يعطى أو يفسد تراكم JA المحفز بالجروح وتعبير جينات التي تعتمد على JA (Delker et al. 2007) . من بين الخمسة جينات لإنزيم ٣- كيتو أسيل - COA ثيوليز في الأرابيدوبسيس فإن KAT2 يبدو أنه الأكثر وثيق الصلة بالتخليق الحيوي لحمض الجسمونيك . في النباتات المهندسة وراثياً الخادمة التعبير عن KAT2 فإن تراكم JA المحفز بالجروح انخفض بشكل ملحوظ (٦٥ - ٨٠%) وتحفيز الجين العلامة المعتمد على JA (JR2) يتلف وكلاهما يقعا على موقع الجرح وجهازياً من الخطوة النهائية في التخليق الحيوي لحامض JA فإن إستر JA-COA يتحلل مائياً لأفراد حمض حر . لقد تم تعريف الزميل أسيل - ثيواستريزيس في الأرابيدوبسيس واثنان منها من البيروكسيسومال AtACH1 و AtACH2 ولكن الدليل على اشتراكها في التخليق الحيوي لحامض JA مازالت غير واضحة .

من الناحية التقليدية ينظر لحمض الجسمونيك على أنه المنتج النهائي للمسار والهورمون النشط حيويًا . العديد من نواتج التمثيل المختلفة لحمض JA والخطوات الإنزيمية في تحولاتها الداخلية كان يعتقد أنها تساهم في سوية الهرمونات لموازنة والسيطرة على المستويات لحامض الجسمونيك النشط . هذه الرؤية تغيرت حيث أن الباحث E.E. Farmer أخذ الوضع الأقصى كبادئ للهورمونات الفعالة حيويًا مثل مقترنات JA (Farmer 2007) في الحقيقة يوجد دليل واضح بأن بعض نواتج تمثيل JA ذات خصائص إشارية فريدة وأن بعض العمليات لا يسيطر عليها بواسطة JA ولكن بواسطة مشتقات JA . كمثال فإن حركة الورقة الليلية nyctinastic في Albizzia تعتمد على مشابه خاص لمركب ١٢- أيد - JA - O - جلوكوسيد و ١٢- أيد - JA (تبيرونيك أسيد) والذي يشترك في تكوين درنة البطاطس وفي إشارات الدفاع ويبدو أن الإشارة النشطة تمثل الأמיד - المرتبط بمقترن الأيزوليوسين PA - Ile عما هو الحال مع JA نفسه (Kang et al. 2006) .

الصلة الوثيقة بـ JA - Ile كإشارة في الصلاحية الخاص به عرفت لأول مرة بواسطة الباحث Wasternack ومعاونوه الذين لاحظوا أن JA , JA - Ile حفزا استجابات مختلفة عندما استخدمنا على أوراق الشعير ولكن كلاهما أظهرنا نشاطاً بدون أية تحولات داخلية (Kramell et al. 1997) . التخليق الحيوي للـ JA - Ile يتضمن أدينالية JA متبوعاً بتبادل AMP مع الأيزوليوسين بواسطة إنزيم اقتران الحمض الأميني سينسيتيز JARI . طفرة Jar 1 في الأرابيدوبسيس غير حساسة لحمض الجسمونيك عندما يستخدم خارجياً بالنظر لتنشيط نمو الجذور وتحفيز المقاومة لفطر بيثيوم وتحفيز المقاومة

الجهازية (ISR) والحماية ضد ضرر الأوزون . بالإضافة إلى ذلك فإن اخماد أورثولوج JARI في نباتات الدخان يتضمن ويؤدي إلى تحفيز جين الدفاع والمقاومة ضد حشرة M.sexta . لذلك فإن الاقتران إلى Ile يبدو ضرورياً لتحت حزمة على الأقل من العمليات المنظمة للجسمونات . لقد تم تعضيد الوظيفة الخاصة للتأشير في JA - Ile عن طريق ملاحظة أنه على عكس JA أو OPDA فإن JA - Ile تعول التعبير الجيني المعتمد على مخفضات الانهيار الخاصة بالجسمونات (Thines et al. 2007) .

٣- تأشير الجسمونات في التحفيز الجهازى للدفاعات ضد آكلى النباتات

التحفيز الجهازى لمثبطات بروتينيز الدفاع في نباتات الطماطم استجابة للجروح الموضعية أو هجوم آكلى النباتات اكتشف بواسطة الباحث Ryan ومعاونوه منذ ٣٥ سنة مضت ومنذ ذلك الوقت اعتبرت كنموذج لدراسة عمليات التأشير على المدى البعيد في النباتات . لقد تم تعريف عدد من الإشارات الكيميائية في معمل Ryan والتي تشترك في التحفيز الجهازى لاستجابات الدفاع . هذا يشمل ببتيدات السيستيمين التى تشق من بروتينات بادئة أكبر بواسطة عمليات تحليل البروتينات (Pearce et al. 1991) والأوليوجوالاكتيرينويدز والذي يتكون بواسطة إنزيم بولى جالاكتورونيز جهازية المحفز بعد الجروح (Bergey et al. 1999) والجسمونات المشتقة من مسار الأوكتاديكانويد . لقد اقترح Farmer and Ryan نموذج بناء على أى إشارات الجروح الأولية مثل الأوليوجوالاكتيرينويدز والسيستيمين توجه نشاط مسار الأوكتاديكانويد مما يؤدي إلى انفجار في إنتاج JA والذي يؤدي في النهاية لتنشيط جينات الدفاع . مسار تأشير الجروح وتداخله مع مسارات تأشير الدفاع والهورمون ودور جزيئات الإشارات الفردية تعرضت للعديد من الإصدارات المرجعية :

(Pieterse et al. 2006 ; Ryan and Pearce 2003 ; Stratmann 2003 ; Howe 2004 ; Lorenzo and Solano 2005 ; Schilmiller and Howe 2005 ; Wasternack et al. 2006 ; Cheong and Choi 2007)

والإشارات الجهازية للجرح نوقشت بالتفصيل بواسطة Schaller and Howe فى هذا المقام سوف نركز على الدور الخاص فى تنشيط تعبير جين الدفاع .

منذ اكتشاف الاستجابة الجهازية للجروح اهتم الباحثون بالإجابة على السؤال : لآى طول مسافة يجب أن تصل إليها الإشارة (Bowles , 1998) . البحوث التى تناولت الإشارة الجهازية للجرح فى نباتات الطماطم أدت إلى اكتشاف السيستيمين فى معمل الباحث Ryan ودورها كإشارة جهازية متحركة تم تدعيمها بالعديد من الملاحظات : لقد اتضح أن السيستيمين ضرورى ويجب أن يكون كافياً للاستجابة الجهازية للجرح حيث أنه يوجه تخليق متراكم JA حيث أنه يتحرك داخل اللحاء عندما يستخدم عند مواقع الجرح ،

كما أن بروتين البادىء يعبر عنه بوجه خاص فى النظام الوعائى . بناء على هذه النتائج تم اقتراح نموذج بناء عليه فإن السيستيمين يتحرر من جراء تحلل البروتين من بادئيه بمجرد حدوث الجروح وتحمل فى عناصر غريلة وتنقل على طول مصدر لغرض مكوناته فى الأنسجة الجهازية حيث تنشط تخليق حامض الجسمونيك كإشارة ثانوية لتحفيز تعبير جين الدفاع (Ryan 2000) .

هذا ولو أن هذا النموذج لا يتوافق تماماً مع الموجودات الحديثة من معمل Howe فقد أتضح أن التأشير الجهازى يتطلب نشاط السيستيمين وتخليق JA فقط فى الأوراق المجروحة وليس الجهازية . بالإضافة إلى ذلك فإن تحفيز جينات الدفاع فى الأنسجة الجهازية تعتمد على منظورية JA والتأشير ولا تعتمد على كفاءة تخليق JA . هذه النتائج فى توافق تام مع ملاحظة أن تعبير جينات مسار أوكتاديكانويد يحفز بواسطة الجروح عند موضع تلف النسيج وليس جهازياً وأنه تحدث زيادة كبيرة فى مستويات JA فى الأوراق المجروحة وليس فى الأنسجة غير المجروحة . لقد اقترحت هذه النتائج أن السيستيمين يعمل عند موضع تلف النسيج ويقوى الاستجابة الجهازية للجروح بواسطة تدعيم مسار أوكتاديكانويد ، لخلق إشارة لمسافة طويلة ، وقد تكون JA نفسه أو أى من مشتقاته .

الدور المشترك للسيستيمين الأولى ومسار أوكتاديكانويد فى توليد الإشارة المتحركة فى اللحاء لتحفيز الجهازى لجينات الدفاع تتوافق فى أو مع موقعهم فى الأنسجة الوعائية لنباتات الطماطم . العديد من إنزيمات مسار الأوكتاديكانويد - LOX , AOS , AOC تقع فى مصاحبة مع معقد عنصر غربال الخلية حيث أن السيستيمين الأولى يتراكم فى خلايا برانشيمية اللحاء . وجود إنزيمات مسار السيستيمين الأولى والأوكتاديكانويد فى أنواع الخلايا المختلفة من الحزمة الوعائية أدت إلى اقتراح نموذج يتم فيه انطلاق السيستيمين من الخلايا البرانشيمية اللحاء استجابة للجروح وحينئذ تتوفر على سطح الخلايا المجاورة المصاحبة حيث توجه نشاط مسار الأوكتاديكانويد لإنتاج الإشارة الجهازية وينطلق فى عناصر الغربال للقفز على مسافات طويلة .

حدوث تراكم JA عند موقع الضرر يحدث على الفور ويصل إلى أقصى مستوى بعد ساعة من حدوث الجرح (Doares et al. 1995) ويجب أن يكون مستقلاً عن التغيرات فى تعبير الجين . مازالت هناك أسئلة مثارة : كيف تتم السيطرة على الانفجار الابتدائى فى إنتاج الجسمونات ؟ وكيف أن إنتاج الجسمونات يكون محدوداً فى الأنسجة غير المجهزة..؟ من غير الواضح أى مستوى إنزيمات مسار الأوكتاديكانويد التى تعبر تكوينياً وبوفرة فى أوراق الطماطم غير المحمية . هذه الإنزيمات لا تملك وفرة للمواد الوسيطة الخاصة بها المقابلة وفى هذه الحالة فإن تيسر المادة الوسيطة يكون محدوداً لإنتاج الجسمونات و / أو يعبر تكوينياً عن مسار إنزيمات الأوكتاديكانون قد تكون غير نشيطة وتتطلب تحويل ما بعد الترجمة للتنشيط . كلا الفرضيتان فى توافق مع الملاحظة المتكررة

بأن النباتات المهندسة وراثياً التي تعبر بشكل فائق عن إنزيمات مسار الأوكتاديكانويد ليس فيها مستويات راحة زائدة من JA ولكنها تظهر زيادة في إنتاج JA بعد حدوث الجروح (Park et al. 2002)

المواد الوسيطة الأولية لمسار أوكتا (هكسا) ديكانويد عبارة عن أحماض دهنية عديدة غير مشبعة (3 : 16 , 3 : 18) المتوفرة في ليبيدات الكلوروبلاست ولكنها لا تيسر بسهولة كبادئات لتخليق JA في النباتات غير المجروحة . الوسائط الإضافية المرتبطة بالليبيد قد تتضمن فوق أكاسيد الايدروجين للحمض الدهني ، ، du OPDA OPDA الذى يتولد من LOX , AOS , AOC من الأحماض الدهنية المؤسترة أكثر منها الحرة (الشكل ٩-٣) (Buseman et al. 2006) . تيسر هذه المواد الوسيطة كبادئات للتخليق الحيوى لحامض الجسمونيك يسيطر عليها بواسطة أنشطة تحلل الدهون والتي قد تتضمن أنواع مختلفة من إنزيمات فوسفوليبازيس والأسيل هيدروليبازيس . ولو أنه على عكس DADI المطلوب لإنتاج JA خلال تطور تكاثر الذكور ، فإن الليبيز أو الليبيزيس قد تشترك في انفجار إنتاج JA المحفز بالجروح والذي تم تعريفه على المستوى الجزيئى .

من السيناريوهات المثيرة للاهتمام تلك التى تتناول كيف أن التحويل ما بعد الترجمة يساهم فى تنظيم نشاط مسار الأوكتاديكانويد والانفجار الابتدائى لإنتاج JA بعد الجروح وهذه المنظومة وجد حديثاً أنها تشتق من التركيب البلورى لـ OPR3 للطماطم . لقد وجد أن الإنزيم يتبلور كمزدوج متجانس وفيها فإن كل بروتوميريسد الموقع النشط للآخر ازدواجية OPR3 التى تصاحب فقد النشاط لوحظت كذلك فى المحلول مما أدى إلى الاقتراح بأن نشاط OPR3 قد يسيطر عليه فى الداخل بواسطة تنظيم التوازن بين المونومير / الايمير . ديمر OPR3 المتبلور وجد أنه يثبت بواسطة أيون السلفات عند السطح الداخلى للديمير . من الخداع أن الكبريتات تقع قريبة من Tyr 364 وتتركز بشكل تام لمحاكاة بقايا الثيروسين المفسر مما أدى إلى الاقتراح بأن الديمرة ونشاط OPR3 قد تنظم بواسطة فسفرة Tyr 364 فى الداخل . هذا السيناريو يتوافق مع الدور المقترح لفسفرة البروتين العكسية فى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك وتنظيم الاستجابة للجرح (Rojo et al. 1998) .

استتباعاً لإنتاج JA عند موقع النسيج المضار وتقل الإشارة لمسافة طويلة فإن نشاط استجابات الدفاع فى الأنسجة الجهازية تتطلب COI 1 . لقد تم تعريف COI 1 منذ سنوات عديدة مضت كمكون ضرورى فى مسار تأثير JA فى غربلة للوقوف على عدم حساسيتها للكوروناتين وهو مشتق تركيبى لمكون (Feys et al. 1994 , Xie et al. 1998) . المخرجات بأن COI 1 جزء من معقد Skp/cullen / Fbox JA-Ile

COI1 (SCF) وهو نوع في إنزيم E3 ليجيز أدت إلى الاقتراح بأن تأشير JA يتحكم فيه بواسطة المنظم السالب الذي يتميز بمحدودية الوجود بوجه خاص بواسطة SCF COI1 وتوجهه للتحطم بواسطة 26S بروتيناسوم مما يؤدي إلى تنشيط استجابات JA . المنظمات السالبة لتأشير JA ظلت موارد حتى وقت قريب حيث أظهرت دراستان تعريف بروتينات JA2 (دوام Zim جسمونات كأهداف للـ Scf COI1) .

٤- الرؤى والمنظور

بالرغم من التقدم الهائل في السنوات الأخيرة إلا أنه مازالت العديد من الأسئلة مثارة فيما يتعلق بالتخليق الحيوي للجسمونات والتأثير . عندما يؤخذ في الاعتبار التخليق الحيوي لحمض الجسمونيك JA فإنه من المدهش قلة ما هو معروف عن كيفية البداية . السؤال لا يبدو تافهاً كما يبدو . من الواضح أن LOX - 13 المستقر في البلازميد يساعد في تكوين الهيدرو بيروكسيدات الحمض الدهني كخطوة أولى في التخليق الحيوي لحمض JA ولكن وسائط LOX قد تتضمن أحماض دهنية عديدة عدم التشبع حرة تنفرد من ليبيدات الكلوربلاست بواسطة ليبيزيس غير معرفة أو أحماض دهنية تبقى مؤسثرة في ليبيدات الغشاء . في الحقيقة فإن وسائط مسار أوكتا (هكسا) ديكانويد توجد في الليبيدات المعقدة في نباتات الأرابيدوبسيس . لقد تم تعريف ١٧ من الليبيدات المعقدة بما فيها المونو والداي جالاكتوسيل داي أسيل جليسرولات DGDGs , MGDGs وكذلك فوسفاتيديل جليسرول مع OPDA , dnOPDA المؤسثرة في مواضع Sn1 و/أو Sn2 . الزيادة السريعة جداً (خلال ١٥ دقيقة) والكبيرة جداً (٢٥٠ - ١٠٠٠ مرة) لليبيدات المعقدة التي تحتوي سلسلتان أوكسي ليبين بعد الجرح وكذلك الوفرة النسبية وتخصص موضعية OPDA , dnOPDA في أنواع الجالاكتوليبيد المختلفة التي تعكس تكوين الجالاكتوليبيدات قبل الجرح مما أدى إلى الاقتراح بأنها تنشأ في نفس المكان بواسطة التحول المباشر للمؤسثرات 18:3 و 16:3 . توافقاً مع هذه الملحوظة فإن الجالاكتوليبيدات المحتوية أوكسيلين و AOS وتقع ترافقياً في مكون غشاء الثيلاكويد للكلوربلاست في الأرابيدوبسيس . في ضوء هذا التنوع لليبيدات المحتوية على الأوكسي ليبينات في الأرابيدوبسيس فإن تعريف الليبيزيس المشترك في أفرادها وميكانيكيات السيطرة على أنشطتها من المشاكل العاجلة واجبة الاعتبار والحل في المستقبل .

References

- Bachmann A, Hause B, Maucher H, Garbe E, Voros K, Weichert H, Wasternack C, Feussner I (2002) Jasmonate-induced lipid peroxidation in barley leaves initiated by distinct 13-LOX forms of chloroplasts. Biol Chem 383:1645-1657

- Berger S, Bell E, Mullet JE (1996) Two methyl jasmonate-insensitive mutants show altered expression of AtVSP in response to methyl jasmonate and wounding. *Plant Physiol* 111:525-531
- Charron JBF, Ouellet F, Pelletier M, Danyluk J, Chauve C, Sarhan F (2005) Identification, expression, and evolutionary analysis of plant lipocalins. *Plant Physiol* 139:2017-2028
- Chini A, Fonseca S, Fernandez G, Adie B, Chico JM, Lorenzo O, Garcia-Casado G, Lopez-Vidriero I, Lozano FM, Ponce MR, et al. (2007) The JAZ family of repressors is the missing link in jasmonate signalling. *Nature* 448:666-671
- Davin LB, Wang HB, Crowell AL, Bedgar DL, Martin DM, Sarkanen S, Lewis NG (1997) Stereoselective bimolecular phenoxyl radical coupling by an auxiliary (dirigent) protein without an active center. *Science* 275:362-366
- Delker C, Zolman BK, Miersch O, Wasternack C (2007) Jasmonate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* requires peroxisomal beta-oxidation enzymes – additional proof by properties of pex6 and aim1. *Phytochemistry* 68:1642-1650
- Farmer EE (2007) Plant biology: jasmonate perception machines. *Nature* 448:659-660
- Feys BJB, Benedetti CE, Penfold CN, Turner JG (1994) *Arabidopsis* mutants selected for resistance to the phytotoxin coronatine are male sterile, insensitive to methyl jasmonate, and resistant to a bacterial pathogen. *Plant Cell* 6:751-759
- Fox BG, Malone TE, Johanson KA, Madson SE, Aceti M, Bingman CA, Blommel PG, Buchan B, Burns B, Cao J, et al. (2005) X-ray structure of *Arabidopsis* At1g77680, 12-oxophytodienoate reductase isoform 1. *Proteins* 61:206-208
- Green TR, Ryan CA (1972) Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves: a possible defense mechanism against insects. *Science* 175:776-777
- Hamberg M, Fahlstadius P (1990) Allene oxide cyclase: a new enzyme in plant lipid metabolism. *Arch Biochem Biophys* 276:518-526
- Hofmann E, Zerbe P, Schaller F (2006) The crystal structure of *Arabidopsis thaliana* allene oxide cyclase: insights into the oxylipin cyclization reaction. *Plant Cell* 18:3201-3217
- Howe GA (2004) Jasmonates as signals in the wound response. *J Plant Growth Regul* 23:223-237

- Ishiguro S, Kawai-Oda A, Ueda J, Nishida I, Okada K (2001) The DEFECTIVE IN ANTHHER DEHISCENCE1 gene encodes a novel phospholipase A₁ catalyzing the initial step of jasmonate acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation, anther dehiscence, and flower opening in Arabidopsis. Plant Cell 13:2191-2209
- Jacinto T, McGurl B, Franceschi V, DelanoFreier J, Ryan CA (1997) Tomato prosystemin promoter confers wound-inducible. vascular bundle-specific expression of the beta-glucuronidase gene in transgenic tomato plants. Planta 203:406-412
- Kang J-H, Wang L, Giri A, Baldwin IT (2006) Silencing threonine deaminase and JAR4 in Nicotiana attenuata impairs jasmonate acid-isoleucine-mediated defenses against Manduca sexta. Plant Cell 18:3303-3320
- Koo AJK, Chung HS, Kobayashi Y, Howe GA (2006) Identification of a peroxisomal acylactivating enzyme involved in the biosynthesis of jasmonic acid in Arabidopsis. J Biol Chem 281:33511-33520
- Laudert D, Hennig P, Stelmach BA, Muller A, Andert L, Weiler EW (1997) Analysis of 12-oxophytodienoic acid enantiomers in biological samples by capillary gas chromatography-mass spectrometry using cyclodextrin stationary phases. Anal Biochem 246:211-217
- Li L, Li C, Lee GI, Howe GA (2002) Distinct roles for jasmonate synthesis and action in the systemic wound response of tomato. Proc Natl Acad Sci USA 99:6416-6421
- Malone TE, Madson SE, Wrobel RL, Jeon WB, Rosenberg NS, Johnson KA, Bingman CA, Smith DW, Phillips GN, Markley JL, et al. (2005) X-ray structure of Arabidopsis At2g06050, 12-oxophytodienoate reductase isoform 3. Proteins 58:243-245
- Nakamura Y, Kiyota H, Kumagai T, Ueda M (2006a) Direct observation of the target cell for jasmonate-type leaf-closing factor: genus-specific binding of leaf-movement factors to the plant motor cell. Tetrahedron Lett 47:2893-2897
- Pearce G, Strydom D, Johnson S, Ryan CA (1991) A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins. Science 253:895-898
- Pieterse CMJ, Schaller A, Mauch-Mani B, Conrath U (2006) Signaling in plant resistance responses: divergence and cross-talk of defense pathways. In: Tuzun S, Bent E (eds) Multigenic and induced systemic resistance in plants. Springer, New York, pp 166-196

- Ryan CA (1992) The search for the proteinase inhibitor-inducing factor, PIIF. *Plant Mol Biol* 19:123-133
- Snaders PM, Lee PY, Biesgen C, Boone JD, Beals TP, Weiler EW, Goldberg RB (2000) The *Arabidopsis* DELAYED DEHISCENCE1 gene encodes an enzyme in the jasmonate acid synthesis pathway. *Plant Cell* 12:1042-1061
- Schaller F, Weiler EW (1997) Molecular cloning and characterization of 12-oxophytodienoate reductase, an enzyme of the octadecanoid signaling pathway from *Arabidopsis thaliana*. Structure and functional relationship to yeast old yellow enzyme. *J Biol Chem* 272:28066-28072
- Seo HS, Song JT, Cheong JJ, Lee YH, Lee YW, Lee JS, Choi YD (2001) Jasmonate acid carboxyl methyltransferase: a key enzyme for jasmonate-regulated plant responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:4788-4793
- Stratmann JW (2003) Long distance run in the wound response – jasmonic acid is pulling ahead. *Trends Plant Sci* 8:247-250
- Tani T, Sobajima H, Okada K, Chujo T, Arimura S, Tsutsumi N, Nishimura M, Seto H, Nojiri H, Yamane H (2007) Identification of the OsOPR7 gene encoding 12-oxophytodienoate reductase involved in the biosynthesis of jasmonic acid in rice. *Planta* DOI 10.1007/s00425-007-0635-7
- Thines B, Katsir L, Melotto M, Niu Y, Mandaokar A, Liu G, Normura K, He SY, Howe GA, Browse J (2007) JAZ repressor proteins are targets of the SCF^{COI1} complex during jasmonate signalling. *Nature* 448:661-665
- Ueda J, Kato J (1980) Isolation and identification of a senescence-promoting substance from worm-wood (*Artemisia absinthium* L). *Plant Physiol* 66:246-249
- Vick BA, Zimmerman DC (1984) Biosynthesis of jasmonic acid by several plant species. *Plant Physiol* 75:458-461
- Wang C, Avdiushko S, Hildebrand DF (1999) Overexpression of a cytoplasm-localized allene oxide synthase promotes the wound-induced accumulation of jasmonic acid in transgenic tobacco. *Plant Mol Biol* 40:783-793
- Xie D-X, Feys BF, James S, Nieto-Rostro M, Turner JG (1998) COI1: an *Arabidopsis* gene required for jasmonate-regulated defense and fertility. *Science* 280:1091-1094
- Xu LH, Liu FQ, Lechner E, Genschik P, Crosby WL, Ma H, Peng W, Huang DF, Xie DX (2002) The SCF^{COI1} ubiquitin-ligase complexes are required for jasmonate response in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 14:1919-1935

- Yoshihara T, Omer E-SA, Koshino H, Sakamura S, Kikuta Y, Koda Y (1989) Structure of a tuber-inducing stimulus from potato leaves (*Solanum tuberosum* L). *Agric Biol Chem* 53:2835-2837
- Ziegler J, Keinaen M, Baldwin IT (2001) Herbivore-induced allene oxide synthase transcripts and jasmonic acid in *Nicotiana attenuata*. *Phytochemistry* 58:729-738
- Zolman BK, Silva ID, Bartel B (2001) The *Arabidopsis* *pxal* mutant is defective in an ATP-binding cassette transporter-like protein required for peroxisomal fatty acid β -oxidation. *Plant Physiol* 127:1266-1278

الباب العاشر

دور الإفرازات الحشرية وإشارات الأحماض الدهنية والتربينات والمواد المتطايرة في تحفيز مقاومة النباتات ضد هجوم الآفات

أولاً : إفرازات الحشرات (الديدان) والاستجابات المحفزة في النباتات

Caterpillar Secretions and Induced Plant Responses

Gary W. Felton

النباتات تستخدم كلا الدفاعات المحفزة المباشرة (التي تؤثر مباشرة على فسيولوجي ملتهم النبات) والدفاعات المحفزة غير المباشرة (الدفاعات التي تجذب أو تحفز من كفاءة الأعداء الطبيعية لملتهمة النباتات). خلال العقد الأخيرين حدث تعزيز للدراسات وأتضح أن الإفرازات الفمية ولعاب ملتهمة النباتات تلعب أدواراً هامة في إعالة الاستجابات المحفزة. لقد ركزت الكثير من الدراسات على يرقات حرشفية الأجنحة (الفرشات وأبي دقيقات) وهذا يرجع بدون شك إلى أهميتها الاقتصادية كآفات زراعية وكذلك بسبب السهولة النسبية في العمل على إفرازاتها الفمية. في هذا المقام سوف نركز على إفرازات يرقات حرشفية الأجنحة.

G.W. Felton

Department of Entomology, Pennsylvania State University, University Park, PA 16802, USA

e-mail : gwf10@psu.edu

A. Schaller (ed.) , Induced Plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١- مقدمة

اليرقات تتغذى بواسطة قرض وتناول الأنسجة النباتية مما يؤدي إلى تلف النسيج وهذا ما يكفي لتوجيه استجابات الدفاع النباتية. لقد حاول الباحث محاكاة نظام تغذيتها عن طريق إحداث الجروح في الأنسجة النباتية بواسطة أمواس الحلاقة وثاقبات الفلين وعجل الرسم أو باستخدام MecWorm (Mithofer et al. 2005). بينما كل من هذه المعاملات يسبب استجابات للجرح في النبات سواء عند موضع الجرح أو جهازياً في

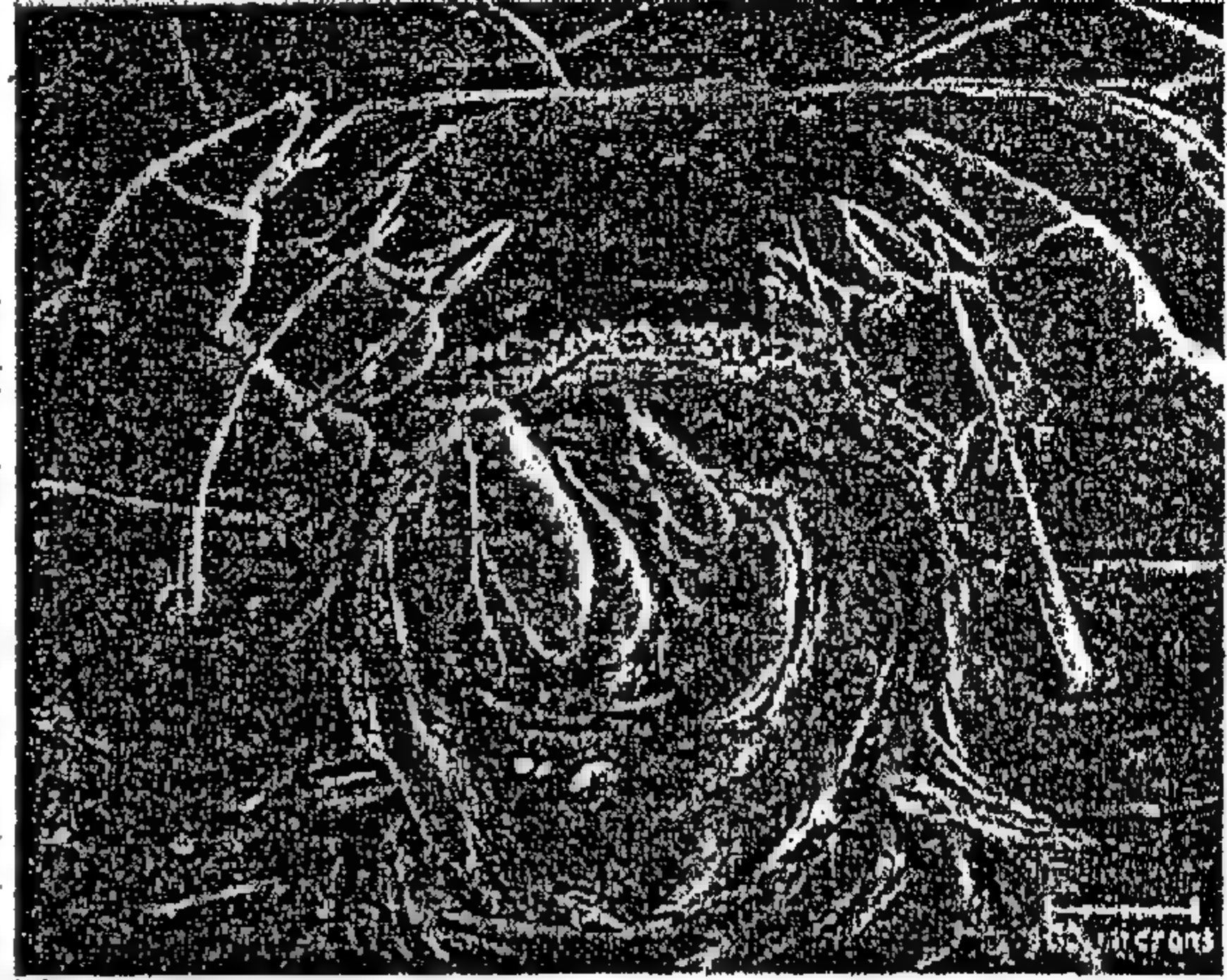
الأنسجة غير المجروحة فقد أصبح من الواضح أن الجرح بنفسه لا يمثل العرض الكامل وتخصصية استجابة النبات لمتهجمات الأوراق . لذلك فإن العوامل المرتبطة بأكل النبات يجب أن توجد كي تلطف الاستجابة للجرح و/أو تحفز تفاعلات إضافية في النبات العائل . المثبرات في الحشرات قد توجد في البراز وفي أغلب الأحوال في الإفرازات الفمية لتحديد وتقدير ما إذا كانت الإفرازات الفمية تلعب دوراً إضافياً في تخصصية استجابات النبات للجرح وتستخدم الإفرازات تقليدياً للنباتات المجروحة صناعياً . الحجم الصغير للحشرات آكلي النباتات بخلاف الديدان مثل المن والذباب الأبيض والتربس .. إلخ تجعل دراستها أكثر صعوبة . نمط التغذية الثاقبة الماصة للمن ونطاطات الأوراق وغيرها من الحشرات تضيف مستوى آخر من الصعوبات عند محاكاة طرق تغذيتها . غالبية البحوث على لعبها ركزت على دورها في فقد سمية المركبات النباتية وفي انتشار الممرضات النباتية (Ferreres, 2007) وقليل من الدراسات تناولت دورها في تحفيز دفاعات النبات . بالرغم من حجمها الصغير فإن اللعاب يمكن جمعه من المن والذباب الأبيض باستخدام غشاء التغذية . لعاب الحشرات آكلي النباتات كان موضع اهتمام العديد من البحوث والمعاهد البحثية .

٢ - الإفرازات الفمية واللعب ... توضيح

يرقات رتبة حرشفية الأجنحة تملك زوجان من الغدد اللعابية : الغدد الشفوية Labial glends والغدد الفككية mandibular (Bordas, 1903) . إفرازات الحرير للغدد الشفوية في يرقات دودة الحرير عرفت واستخدمت لسنوات طويلة في الملابس والآن حقيقة أن نفس الغدد تستطيع أن تنتج لعاب مائي غير مرحب بها من قبل العديد من الحشريون . لقد تم تعريف اللعاب Saliva sensu stricto للإشارة فقط إلى إفرازات الغدد اللعابية الشفوية والفككية . الغدد الشفوية في العادة وبوجه عام طويلة وأنبوبية وتغطي في قناة عامة وحينئذ تنفرد من المغزل (الشكل ١٠-١) spinneret حيث ينفرد نفس التركيب من حيث يفرز وينفرد الحرير . في حالة دودة اللوز الأمريكية فإن الغدد الشفوية في اليرقات كان يعتقد خطأ أنها تفرغ وتفرز في القناة الهضمية عند البلعوم ولو أن هذا الاعتقاد تم تصميحه بواسطة بحاث آخرون (Standlea and Yonke, 1968) .

الغدد الفككية أنبوبية ولكنها تختلف فيما بين الأنواع . هذه الغدد دقيقة نسبياً ومفيدة على منطقة الرأس وفي حالات أخرى قد تكون قريبة على امتداد الغدد الشفوية وتمتد جيداً في الصور . الغدد تفتح في تجويف أبوديم القناة الفككية . في بعض الأنواع فإن الغدة الإضافية ثمانية الفص قد توجد مرتبطة بالفكوك والتي تفتح خلال ثقب عديدة على كلا جانبي الفكوك (Vegliante 2005) .

Electron micrograph of frontal view of head of larval *Helicoverpa zea*. Arrow points to spinneret, the external secretory structure for silk and labial gland saliva. Aperture in the spinneret for the release of silk and/or saliva is clearly visible. (Micrograph courtesy of Michelle Peiffer)



Mag = 150x

شكل (١٠-١) : رسم بالميكروسكوب الإلكتروني يوضح منظر أمامي لرأس يرقة *H. zea*. الأسهم تشير إلى المغزل ، التركيب الخارجي لإفراز الحرير ولعاب الغدة الشفوية . الشق في المغزل لإفراز الحرير و/أو اللعاب واضح الرؤية .

الخصائص أو الصفات الكيميائية لللعاب اليرقات الحشرية تم تناولها بصعوبة أو بشق الأنفس . توجد البروتينات في لعاب الغدة الشفوية ولكن لم يشار إلى الجزيئات الأخرى الكبيرة والصغيرة . إفرازات الغدة الفكية قد تحتوي على بروتينات ولكن لوحظ أن هذه الإفرازات تحتوي كذلك على أقسام مختلفة من الليبيدات مثل الأسثيرولات والتراي جلسريدات (Mossadegh 1978) .

الإفرازات اللعابية للغدد الشفوية والفكية تميز عن إفرازات القيء أو الإفرازات الفمية Oral secretions (=OS) والتي استخدمت على نطاق واسع في دراسات التداخلات بين النبات وملتهم الأوراق (Liu et al. 2004) . العديد من المعامل مثل Baldwin (Roda et al. 2004), Boland (Arimura et al. 2005), De Moraes (De Moraes and Mescher 2004), Dicke (Mattiacci et al. 1995), Korth (Korth and Dixon 1997), Mori (Yoshinaga et al. 2006), Pare (Truitt and Pare 2004), Schmelz (Schmelz et al. 2006), Tumlinson (Tumlinson and Lait 2005), Turlings (Gouinguene et al. 2003) and Wang (Yan et al. 2005) تعمل على OS . هذه الإفرازات تنشأ من الجهاز الهضمي لآكلي النباتات وتحتوي على مواد مشتقة من الحشرات (مثل إنزيمات الهضم) وكذلك المادة النباتية في الأطوار المختلفة للهضم . بسبب أن OS تجمع كاليء يكون من الممكن أن الكميات الصغيرة لللعاب الشفة والفك تجمع خلال هذه العملية .

المكونات النشطة للإفرازات الفمية OS لليرقات أتضح أنها في الغالب مقترنات للحمض الدهني من الحمض الأميني FAC = (Lait et al. 2003) بما فيها فيلوسيثين وهو أول مقترن FAC تم تعريفه كمحفز أو كمثين elicitor . حديثاً وجدت شرائح البروتين النباتي لإنزيم ATP سينيسيز الكلوروبلاستي مع بروتين تحت وحدة r (تسمى انسبتين inceptin) في OS للدودة القارضة وأتضح أنها تحفز بشكل مباشر أو غير مباشر مع الدفاعات في نباتات اللوبيا . كذلك فإن OS قد تحتوي ميكروبات تم تناولها مع الغذاء أو تشتق من مجاميع الميكروبات المتوطنة في الجهاز الهضمي .

٣ - الاقتربات التجريبية لدراسة الإفرازات الفمية واللعب

وظيفة اللعب في يرقات الحشرات يمكن أن تقيم باستخدام الاقتربات التشريحية والصيدلانية و / أو الجزيئية . لقد استخدمت الطرق الجراحية Surgical لمنع اليرقات من إفراز اللعب . هذه الطرق تتضمن استئصال الغدد اللعابية أو كى Cauterization المغزل لمنع إفراز اللعب . لقد قام Wroniszewska (1966) بالاستئصال الجراحي لغدد دودة الشمع جالاريا ميللونيللا ووجد أن فقد الغدد يسبب خفض في معدل نمو اليرقات ولو أن السبب الخاص بخفض معدلات النمو لم يكن ملحوظاً . على نفس المنوال قام Mossadegh (1978) بالاستئصال الجراحي للفكوك لفحص دور إفرازاتها على خيوط الحرير وقام بكى المغزل (باستخدام إبرة ساخنة) لمنع ترسب الحرير . لقد استخدم كى المغزل كذلك لفحص دود الحرير في اقتفاء الأثر الذى يتبع السلوك في أنواع الحشرات الاجتماعية . كى المغزل والإزالة الجراحية للغدد الشفوية استخدمت لفحص وظيفة لعاب الشفة . حديثاً تم استخدام الكى الكيميائى أو الدوائى وهو متوافق ويضمن حدوث كى متجانس . لقد قام Machida عام ١٩٦٥ بإزالة غدة Lyonet (غدة فيليبى Fillippi's gland) أو الاتلاف الشديد لقناتها لتحديد تأثير الأضرار بالغدة على إفراز الحرير .

الإزالة الجراحية للغدد اللعابية خاصة الغدد الفكوية التى تكون في الغالب صغيرة نسبياً تتطلب درجة عالية من المهارة لتفادى قتل اليرقات . بالإضافة إلى ذلك فإن تمثيل النتائج باستخدام طرق التدخل الجراحي يجب أن يتم بحذر لأن شق الكيوتيكل يسبب شلال كبير من استجابات الجروح (Jarosez 1993 , Han et al . 1999 ...) . كى المغزل يفادى هذا التدخل ولكنه محدود على فحص إفرازات غدد الشفوية . فى بعض الأنواع (مثل أبى دقيق الكرب) فإن الكى قد يؤثر بالضرر على سلوك تغذية اليرقات . بالرغم من الحجم الدقيق ليرقات ماندوكاسيكستا فإن مغازلها دقيقة نسبياً ومن الصعب كبها بدون ضرر أجزاء الفم .

الطرق الصيدلانية تشمل المعاملة المباشرة للأنسجة النباتية بإفرازات الفم OS أو إفراز اللعب . تقليدياً يتم جمع OS بواسطة تحفيز اليرقات على القيء والذى يستخدم

حينئذ على جروح النبات الصناعية . يجهز اللعاب بواسطة الإزالة الجراحية ومجانسة الغدد اللعابية مع تقييم متتابع لصفاتها البيولوجية و / أو الكيميائية . لقد استخدمت هذه الطرق بشكل عريض لدراسة مكونات الغدة اللعابية في مفصليات الأرجل التي تتغذى على الدم (Ribeiro et al . 2004) وفي الحشرات آكلة النباتات (Musser et al. 2002) . لسوء الحظ فإنه في العديد من الحالات لم يتم تحديد أى من مكونات OS أو متجانسات الغدة اللعابية تفرز طبيعياً وعادة خلال التغذية . بدون دراسات لاحقة توضح ما إذا كانت هذه المكونات تترسب فعلياً خلال التغذية تصبح الدراسة الصيدلانية محدودة القيمة .

من حسن الطالع تيسر العديد من الاقتربات لتعريف مكونات الإفرازات بداية يمكن جمع اللعاب مباشرة من المغزل أو اللعاب الذى يترسب على المادة الوسيطة للتغذية حيث يمكن جمعها وتحليلها . حدود هذا الاقتراب في الوقت الحالى أنها توجد بكميات دقيقة جداً (حوالى أقل من نانوليتتر) من اللعاب يمكن جمعه من يرقة واحدة . هذا ولو أنه مع التقدم المذهل في حساسية الطرق الكيميائية والبيوكيميائية لا يكون هناك عائق في طريق التحليل . جمع اللعاب من المادة الوسيطة بعد التغذية تعاني من نقص المعرفة عن مكان إفراز المادة المجموعة أى هل هي من الغدد الشفوية أو الفكوية أو القوية أو أى غدد خارجية أخرى . كذلك فإن البروتينات قد تنهار بسبب وجود البروتيازيس المفرزة المرافقة . في حالة إنزيم اللعاب جلوكون أكسيديز يتم استخدام خليط من الطرق الجزيئية والجراحية لتحديد ما إذا كان هذا الإنزيم ينتج أولياً في الغدد الشفوية مع إسهام قليل من الغدد الفكوية (Eichenseer et al. 1999) . كذلك فإن استخدام جسم متخصص للجلوكون أكسيديز يسمح ليس بالتقدير الكمي فقط لكمية الإنزيم المفرز ولكن لإظهار على أى جزء من الورقة تقوم اليرقات بإفراز لعابها (Peiffer and Felton 2005) .

لحد علم كاتب هذا الجزء فإن هذا الاقتراب لم يستخدم لتحديد ما إذا كانت تفرز مكونات خاصة للـ OS . في أحد الأمثلة الدافعة قام Pare ومعاونوه بتعليم بادرات الذرة بثاني أكسيد الكربون مع نظير الكربون $^{14}\text{CO}_2$ في نفس الموضع وسمح ليرقات دودة ورق القطن الصغرى بالتغذية على الأوراق المعلمة إشعاعياً لتحديد إنتاج الفولوسئين . تم جمع الإفرازات الفمية OS من يرقات العمر الثالث ووجدت محتوية على ١٢٠ باراً - مول فولوسئين لكل يرقة . عندما وضعت اليرقات التي أكلت الأوراق المشعة على أوراق غير معلمة إشعاعياً تم تقدير كمية الفولوسئين التي أدخلت على موقع التغذية ووجدت ١٠٠ باراً - مول لكل يرقة (Truitt and Pare 2004) .

في النهاية تم التأكد من أن الطرق الجزيئية ذات فائدة قصوى للحصول على كم هائل من المعلومات عن لعاب مفصليات الأرجل . تجهيز وتتبع الطول الكامل للحامض النووي cDNA للغدد اللعابية ومجاميع الجينوم العامل سوف يحسن بشكل عريض فهمنا عن وظيفة الغدة اللعابية . حديثاً استخدمت اقتربات البروتيوميك لتعريف البروتينات التي تنتج

فى الغدد والعديد منها لم يتم تعريفها من خلال طرق التقييم الحيوى القياسية أو التقليدية (Valenzuela 2002). تحليل التتابعات الجزيئية بواسطة التحليل PSORT (<http://psort.hgc.jp/form2.html>) يمكن أن يعطى ويزود بدليل قوى عن البروتينات التى قد تفرز والتى يمكن أن يتأكد منها بالكشف مع الأجسام المضادة . طرق تدخل RNA (RNAi) استخدمت لخفض جينات اللعاب الخاصة وحينئذ لفحص وظيفتها . ولو أن RNAi وسيلة قوية جداً لتحليل فقد الوظيفة إلا أنه يوجد اهتمام كبير بما يتعدى التأثيرات Pleiotropic الممكنة . إذا كان مطلوب الحقن المباشر للحمض النووى RNAs المتداخل فى الهيموسيل فإن تحفيز الجرح غير المطلوب أو الاستجابات المناعية قد تعقد من استقراء النتائج . فى حالات أخرى فإن التعبير الخاص لجينات التحول فى الغدد اللعابية قد تحقق باستخدام ناقل مثل Piggy Bac Vector وأدى ذلك إلى تقدم كبير نحو فهم وظيفة منتجات الجين (Royer et al. 2005) .

٤ - الإفرازات الفمية والدفاعات المحفزة

لقد حدث تقدم ملموس فى الحقبة الزمنية الأخيرة نحو تعريف المثبرات فى الدفاعات المحفزة فى الإفرازات الفمية لليرقات الحشرية . لقد وجدت مجاميع عديدة من المثبرات تتضمن بيتا - جلوكوسيديز ، FACs مثل الفوليستين وحديثاً شرائح بيتيد الكلوربلاست المسماة انسبتينز (Schmelz et al. 2006 , 2007) . تتكون الانسبتينات عندما تهاجم *S. Frugiperda* نباتات اللوبيا حرة وتهضم بروتين الكلوروبلاست و ATP - سينسيز . كيف تميز النباتات هذه المثبرات الخاصة لآكلات النباتات وتقدم مسارات نقل ونسخ الإشارات لتنظيم الدفاعات المباشرة وغير المباشرة مازال غير مفهوم جيداً . الإفرازات الفمية لليرقات OS (بما فيها FACs) معروف أنها تحفز شلالات من مركبات إشارات حامض الجسمونيك والاثيلين (Kahl et al. 2000) . الانسبتينات توجه الزيادات فى الاثيلين وحمض الجسمونيك وحمض السليسيليك فى اللوبيا . حديثاً أتضح فى نباتات الدخان أن الإفرازات OS / FACs لحشرة *M. Sexta* تنشط MAP كينيزيس (وهى SIPK و WIPK) وهى تمثل مكونات ضد التنظيم الحيوى لحامض السليسيليك وحمض الجسمونيك والاثيلين (Wu et al. 2007) . بالتتابع فإن إفرازات OS , FACs تسبب تغيرات فى التعبير الجينى وإنتاج المركبات العضوية المتطايرة وكذلك نواتج التمثيل الثانوية (Rode et al. 2004) .

فى أغلب الأحوال أتضح أن الإفرازات الفمية OS تحفز الدفاعات غير المباشرة . استخدام FACs لمواقع الجرح بشكل متكرر وليس دوماً تحاكى ما يحدث مع تغذية الحشرة. من المثير للدهشة أنه فى حالة الحشرة *S. Frugiperda* والتداخل مع نباتات اللوبيا فإن FACs وجدت غير فعالة كمثبرات . أظهرت دراسات إضافية فى نظم خاصة

أن إفرازات OS قد لا تلعب دائماً دوراً كبيراً في الدفاعات غير المباشرة . في أحد الأمثلة فإن شبيه الطفيل العام *Campoletis hlorigxac* لا يفرق بين بادرات الذرة المصابة بنوعين من الحشرات من نفس العائلة *H. armigera* , *P.separate* شبيه الطفيل لم يظهر اختلاف في الانجذاب للنباتات التالفة ميكانيكياً المعاملة بإفراز OS لليرقة أو الماء ولو أنه لوحظت اختلافات واضحة في انبعاثات المواد المتطايرة بين المعاملات المختلفة . في بعض الحالات فإن أوراق الدخان التالفة صناعياً ثم عوملت بإفرازات OS لليرقات تبعث نفس مستويات المواد المتطايرة التي تبعث من الأوراق المعاملة بالماء .

ولو أن الإفرازات القمية OS قد تحفز إنتاج المواد المتطايرة . فإن إنتاجها لا يؤدي دائماً إلى زيادة أو تحفيز الدفاع في النباتات . إلى جانب دور المواد المتطايرة كإشارات في جذب الأعداء الطبيعية فإنها قد تجذب كذلك آكلات النباتات كما هو الحال في حقول البطاطس حيث أن خنافس الكلورادو أكثر انجذاباً للنباتات التالفة أو النباتات المعاملة بالإفرازات القمية OS للخنفساء أو نطاط الكرب عما هو الحال مع النباتات غير التالفة . على نفس المنوال فإن يرقات الدودة القارضة أكثر جذباً للرائحة المنبعثة من النباتات المضارة بواسطة آكلات الأوراق بالمقارنة بالنباتات غير المضارة . لقد أدت هذه النتائج إلى الاقتراح بأنه ولو أن المواد المتطايرة المحفزة قد تجذب الأعداء الطبيعية لآكلات النباتات إلا أنها تعزز غزو آكلات النباتات للنباتات التالفة في بعض الأحيان . هذا من الأهمية بمكان لفحص دور المواد المتطايرة المحفزة في النظم البيئية الطبيعية . مازالت هناك أمثلة أخرى حيث إفرازات OS لا تحفز الدفاعات غير المباشرة ولكنها تحفز الدفاعات المباشرة . بالإضافة إلى ذلك فإنه في نباتات الدخان أتضح أن إفرازات OS من حشرة *M. Sexter* تخفض الدفاع المباشر المحفز وإنتاج الالكالويد نيكوتين . هذا المثال يوضح كيف أن آكل النباتات يحاول الهروب من دفاعات النبات .

٥ - اللعاب والدفاعات المحفزة

إذا أخذ في الاعتبار الدور الهام الذي يلعبه اللعاب *Saliva* في مراوغة العائل بواسطة مفصليات الأرجل التي تتغذى على الدم لا يكون مستغرباً إذا قامت الحشرات آكلة النباتات باستخدام استراتيجية دفاعية مشابهة . لقد بدأ معمل كاتب هذا الجزء في دراسة اللعاب في تجنب الدفاعات المحفزة باستخدام الحشرة *H. Zeh* كنموذج . لقد تم إجراء كي المغزل واستخدام مهروس الغدة اللعابية لتحديد أن لعاب الغدة الشفوية من حشرة *H.Zeh* تسكن أو تخفف المقاومة المحفزة وتحفيز الدفاع المباشر (مثل النيكوتين) في نباتات الدخان . لقد تحصل على دليل متقدم عن دور اللعاب في خفض المقاومة المحفزة بواسطة الإزالة الجراحية للغدة اللعابية . فصلات مهروس الغدة اللعابية أظهرت أن الجلوكوز أوكسيديز (*GOX*) مسئول أولاً عن خفض المقاومة . *GOX* عبارة عن بروتين متوفر

في لعاب حشرة *H. Zea* ويعبر عنه بأعلى مستويات خلال تغذية اليرقات . الإنزيم يعول التفاعل الآتى :



ناتج التفاعل فوق أكسيد الايدروجين H_2O_2 يبدو أنه الأكثر نشاطاً في الخفض . لقد فحص (Zong and Wang 2004) دور اللعاب من مهروس الغدة الشفوية لثلاثة أنواع من حشرات حرشفية الأجنحة *S.litura* , *H.armigera* , *H. assulta* في تحفيز إنتاج النيكوتين في نباتات الدخان . لقد أشار الباحثان أن التغذية بواسطة ديدان اللوز أو استخدام مهروس الغدة اللعابية الشفوية لهما على جروح النباتات خفضت من إنتاج النيكوتين . تركيزات GOX عالية بشكل استثنائي في *H.armigerr* ومنخفض لحد ما في *H.assulta* . على العكس فإن التغذية بواسطة *S.litura* أو استخدام مهروس الغدة الشفوية لها والتي لم يكشف عن وجود GOX فيها فشلت في خفض تحفيز النيكوتين . بناء على هذه النتائج والتجارب على GOX الفطرية عندما استخدمت على الأوراق المجروحة ثم الاستنتاج بأن GOX اللعابي (و H_2O_2) تلعب دوراً هاماً في خفض النيكوتين المحفز بالجروح (Zong and Wang 2004) .

لقد وجد GOX (الجلوكون أكسيداز) في العديد من أنواع يرقات حرشفية الأجنحة وتم الاستنتاج بأن وظيفتها تتمثل في خفض نظم أخرى . كمثال فإن أوراق الدخان عندما يتغذى عليها ديدان البراعم *H. Virescens* لم يتم الكشف عن انفراد نيكوتين متطاير ولو أنه إذا استئصل المغزل *Ablated* يحدث انفجار كبير في انطلاق النيكوتين المتطاير (Delphia et al. 2006) . دودة البراعم تحتوى على مستويات عالية من GOX ولكن دوره في خفض انفراد النيكوتين المتطاير لم يختبر في هذه الحالة . استئصال المغازل في الدودة القارضة أظهر أن لعابها يخفض من مستويات النسخ في الجينين اللذين يشفرا الإنزيمات المبكرة في التخليق الحيوى للتربينويدز في *Medicago truncatula* . الإنزيم GOX الذى وجد في لعاب الدودة القارضة يسبب على نفس المنوال خفض في مستويات نسخ هذه الجينات . ما إذا كان خفض هذه المستويات من النسخ كافية أو غير كافية لتغيير إنتاج المواد المتطايرة التى تعمل كدفاعات غير مباشرة مازالت غير معروفة .

الدراسات اللاحقة على *H.Zea* أدت إلى الاقتراح بأن دور اللعاب في تجنب دفاعات العائل أكثر تعقيداً عما كان يظن في السابق . في حالة الطماطم وهو عائل آخر فى *H.Zea* وجد أن GOX ذات تأثير مختلف عما هو الحال مع الدخان . في هذه الحالة فإن استخدام GOX الفطرى (وإنتاج H_2O_2) يسبب زيادة كبيرة في الدفاعات مثل مثبطات البروتينيز . لقد تأكدت هذه المخرجات باستخدام GOX المنقى على الأوراق المجروحة ميكانيكياً والتي أوضحت أنه يزيد بشكل كبير من مستويات نسخ جينات مثبط البروتينيز

II - (P1 - II) كما تم قياسه بواسطة PCR الحقيقي الكمي الوقتي (PCR - 9RP) .
لقد توقع أن استخدام اللعاب (المجموع من المغازل) يسبب زيادات مشابهة عندما
يستخدم على الأوراق التالفة ميكانيكياً حتى الكميات القليلة جداً (أقل من 1 نانوليتر)
تحفز بقوة تعبير PI - II . هذه النتائج تعطي مثال عن كيف أن عامل العنفوانية في
الحشرة (GOX و H_2O_2 على التوالي) يمكن أن يستخدم بواسطة النبات كعامل مثير
لتحفيز القياسات المناسبة (تحفيز مثبطات البروتينيز في الطماطم) .

٦- الطبيعية الديناميكية أو الحركية للإفرازات

قد توجد تباينات في الطرز الفينولوجية في تركيب إفرازات يرقات الحشرات التي
تعتمد على التأثيرات الخاصة بالتطور والبيئة . طور تطور اليرقة له تأثير ملحوظ على
تركيب اللعاب . تخليق بعض بروتينات الغدة اللعابية مثل GOX ومشابه الإنزيم تصل
لمستوياتها القصوى خلال فترة التغذية لكل انسلاخ بينما البروتينات الأخرى مثل الكيتينيز
تصل للمستويات القصوى بعد توقف اليرقات عن التغذية وتبدأ في الانسلاخ . التعبير
المؤقت عن بروتين الغدة اللعابية قد يحدث إشارات هامة حيث يفرز البروتين خلال
التغذية . عندما تصل اليرقة إلى الطور غير المتغذى وهو ما قبل العذراء فإن الغدد الشفوية
تتجه نحو الانتحار الخلوي Apoptosis ووقف تخليق معظم البروتينات . بالإضافة إلى
ذلك فإن بعض البروتينات الخلوية قد يتخلص منه في اللعاب خلال هذه المرحلة من
التطور .

ليس الطور اليرقي فقط ولكن نوع غذاء اليرقات كذلك يؤثر بشدة على تكوين وإفراز
اللعاب . إنزيم GOX الشفوي (والبروتين الكلى للغدة) في حشرة H.Zea كانت أعلى
كثيراً في اليرقات المرباة على نباتات الدخان بالمقارنة بنباتات الطماطم أو القطن .
استخدام الجسم المضاد المتخصص لإنزيم GOX يسمح بالتقدير الكمي لإنزيم GOX
المفرز على سطح الورقة ولقد وجد أن اليرقات تفرز كميات متفاوتة من GOX مع اتجاه
إفراز أقل على الطماطم بالمقارنة بالعائلين الآخرين . العمر اليرقي الأخير يفرز ما بين
٠,٤ وحتى ٠,٧ ميكروجرام GOX لكل ساعة . على عكس GOX فإن المشابه الإنزيمي
mRNA أكثر انخفاضاً في اليرقات التي تتغذى على الدخان عن تلك التي تتغذى على
القطن أو الطماطم . هذه المخرجات توضح أن كميات البروتينات الخاصة في اللعاب تنظم
بشكل متفاوت وليست تمثل وظيفة البروتين الكلى الموجود في الغدد . الغدد الشفوية من
اليرقات التي تتغذى على الدخان ذات المحتوى الأعلى في البروتين ولكن مستويات
المشابه الإنزيمي كانت الأقل . ما إذا كانت المعدلات متفاوتة من الإفرازات للبروتينات
المختلفة على العوائل المختلفة ذات أي قيمة تكميلية واجبة الفحص .

نشاط إنزيم GOX الشفى على غذاء صناعى ودودة البيرثا كانت أكبر كثيراً فى اليرقات التى تغذت على غذاء صناعى بالمقارنة بتلك التى تناولت النبات البقولى ميديكاجوترانكتيولا . على العكس فإن تعبير مشابه الإنزيم صعب الكشف عنه فى حشرة H.Zea التى تغذت على غذاء صناعى مقارنة بتلك التى ربيت على نباتات العائل . هذه الدراسات تقدم ضرورة الحذر من تعميم وظيفة اللعاب من اليرقات التى تتغذى على بيئات صناعية .

العائل النباتى له تأثير ملحوظ ليس على تركيب وإفراز اللعاب فقط ولكن على حجم الغدد اللعابية كذلك . لقد أشار الباحث (Eichenseer et al. 2002) أن العائل النباتى H.Zea أثر بدرجة كبيرة على حجم الغدد الفكية وكذلك على كمية الكاروتينويدز الموجودة فى أنسجتها . الغدد الفكية فى اليرقات التى تتغذى على فول الصويا كانت أطول مرتان وفى القطن كذلك بالمقارنة باليرقات التى تغذت على الطماطم أو القطن بالرغم من أن اليرقات كانت متطابقة فى مرحلة التطور . الحجم الزائد للغدد يفترض أن يرجع إلى زيادة حجم الخلية لأنه فى دودة الحرير B. mori فإن عدد خلايا كلا الغدد الشفوية والفكية تبقى ثابتة فى العدد (٣٣٠ خلية) ومن ثم فإن الغدد تزداد فى الحجم بمقدار ١٠٠٠ مرة خلال التطور .

كذلك فإن تركيب الإفرازات الفمية OS قد تختلف تبعاً لنوع الغذاء الذى تتناوله الحشرة . حقيقة أن العوائل المختلفة تستجيب بدرجات متفاوتة لتغذية M.sexata ولا توضح فقط وجود اختلافات خاصة بين العوائل فيما يتعلق باستجابات الدفاع ولكن اقترح كذلك أن تركيب الإفرازات تختلف عندما تتغذى الحشرة على عوائل مختلفة (Schmidt et al. 2005) . بينما المصادر الغذائية المختلفة لحشرات M.sexata , H.Virescens فى طور اليرقى تشمل نباتات العائل وغير العائل إلا أنها لم تؤثر على تركيب الحمض الأمينى لمكون FACs فى الإفراز الفمى OS ولكن يمكن أن تحدث اختلافات كمية أو اختلافات فى مكونات OS الأخرى . كمثال فإن H.subflexa فى العمر اليرقى فشلت فى إنتاج فولوسيتين عندما تغذت قصرياً على ثمار فياليس أنجيولاتا الذى ينقص فيه حمض لينولينك وهو مكون ضرورى فى FAC . الدودة القارضة S.Frvgiperda فقط أتضح أن يرقاتها التى تتناول ATP سينسيز Y - تحت وحدات بروتينات وتنتج شرائح الببتيد المسماة أيسيبتيفات تحفز دفاعات نباتات اللوبيا بشكل كبير (Schmelz et al. 2006 , 2007) .

٧- اللعاب والإفرازات الفمية يجب أن تفحص فى تزامن

الإفرازات الفمية فقط لا تعطى تفسير كامل عن تخصصية الاستجابة المحفزة لليرقات. كمثال فإن S.exigua التى تتغذى على الذرة تثبط تعبير بعض الجينات المحفزة

بالفوليسيتين بالرغم من وجود الفوليسيتين في إفرازاتها الفمية (OS Lawremce and Novak 2004). هذه النتائج وغيرها أدت إلى الاقتراح بأن المكونات الإضافية لإفرازات اليرقات قد تشترك في هذه الاستجابات. لقد قام معمل Korth بفحص تأثير أكالات النباتات وإفرازات OS واللعب على الجينات التي تتحكم في إنتاج التربين في نموذج *M. truncatula*. لقد وجد أن التغذية بواسطة *S.exigua* وإفرازات OS أو FACs (ن - لينولينويل - جلوتامات أو ن - لينو لويل جلوتامات) زادت من مستويات نسخ إنزيم تربين سينسيز المفترض (MTPS, Gomee et al. 2005). في دراسة أخرى قام المعمل بفحص تأثير اللعب على مسار التخليق الحيوي للتربين ووجد أن تشفير النسخ للمسار المبكر للإنزيمات كانت أقل في الأنسجة التي تعاني من أكل النباتات (Bede et al. 2006). لقد تم استئصال اليرقات كما وصف سابقاً وخلص الباحث إلى أن عامل اللعب وقد يكون GOX تشترك في خفض مستويات النسخ. أظهرت هاتين الدراستان أنه بالإضافة إلى الجروح فإن كلا الإفرازات الفمية واللعب هامة في تقدير استجابة النباتات الدفاعية في النهاية.

ولو أنه في نظم العلاقة بين اليرقات / العائل النباتي فإن اللعب و / أو إنزيم GOX قد لا تتساوى في الأهمية. الترتيب الدقيق لعدد ٢٤١ جين من نباتات الدخان تعبر في تباین استجابة لهجوم حشرة *M.sexta* استخدم لمقارنة استجابة النسخ FACs من قىء حشرة ماندوكا وإنزيم GOX الفطري. حقن إنزيم GOX (والجلوكوز) في نسيج الورقة غير المجروحة تنظم بشكل فائق ٣٧ نسخ وتنظم بدرجة أقل النسخ خلال فترة ساعتان ولو أن قليل فقط من الجينات ينظم في تشابه بعد ساعة من معاملة الأوراق المجروحة بواسطة قىء الماندوكا. لقد استنتج الباحث أن فوق أكسيد الايدروجين لمشتق من إنزيم GOX يعلب دوراً قليلاً فقط في تحفيز استجابات النباتات الخاصة بالماندوكا. كذلك فإن مهروس الغدة اللعابية (كلاهما الشفى والفكى) من حشرة *M. sexta* فشلت في تكبير تعبير مثبط التربسين في عائلها من نباتات الدخان (Roda et al. 2004). من غير المستغرب أن إنزيم GOX لا تنتج استجابات نباتية مشابهة لحشرة *M.sexta* مع الأخذ في الاعتبار أن هذا النوع لم يكشف عن إنزيم GOX في اللعب.

لقد أشار الباحث (2006) Delphia et al. إلى دور إفرازات حشرة OS *H.virescens* والإفرازات اللعابية على تحفيز التطاير في أنواع نباتات الدخان التجارية. استخدام طريقة الاستئصال التي وضعت قبلاً لمنع انفراد اللعب الشفى وجد أن النباتات التالفة بواسطة اليرقات تطلق ١١ مركب متطاير بينما اليرقات التي استئصلت حفزت نفس المركبات الاحدى عشر إلى جانب ٨ مركبات أخرى بالإضافة إلى ذلك فإن النباتات التي تلفت بواسطة اليرقات المستأصلة تطلق كميات أكبر من المركبات المتطايرة ولوحظ أن

معظمها نيكوتين متطاير بالمقارنة بالنباتات التي تلفت باليرقات . من الواضح أن استخدام كلا اللعاب والإفرازات الفمية تحفز قليل من النيكوتين بالمقارنة بما يحفز مع المعاملة بالإفرازات الفمية OS فقط . هذه النتائج توضح أن كلا OS واللعاب ضروري لإنتاج البروفيل المتطاير لحشرة *H. Virescens* التي تتغذى على الدخان وأن هذا اللعاب قد يحجب تأثير FACs الموجود في OS . لقد أدت هذه الدراسات إلى أن آكلات النباتات قد تقلل من دورها في المحفزات سواء من خلال تحجيم إنتاج المحفزات أو بواسطة حجب تأثيراتها من خلال إفراز المكونات اللعابية .

٨- اللعاب والإفرازات الفمية والمدى العوائلي

الاستجابات النباتية المحفزة لآكلات النباتات الحشرية عبارة عن ظاهرة عريضة الانتشار . لقد درست درجة هذه الاستجابات لآكل النباتات المعين في أمثلة عديدة (Felton et al. 1994 , Stout et al. 1998) . الأول ما إذا كان اتساع غذاء آكل النباتات (أو خصوصية العائل) يعمل كعامل في التخصصية قد تم فحصه في القليل من الحالات . تخصصية التحفيز بواسطة اثنان من اليرقات المتخصصة (مدى ضيق من العوائل) واثنان من اليرقات عامة التغذية (مدى عريض من العوائل) تم مقارنتها في الفجل البري حيث خط عدم وجود نظم عامة في التخصصية بين اليرقات الخاصة والعامة (Agrawal 2000) . الأساس البيوكيميائي والجزيئي للاستجابات المحفزة لم يقدر في هذه الدراسة .

في هذا المقام سنتناول قليل من الأمثلة التي فيها تمثل الإفرازات الفمية والمدى العوائلي لآكل النباتات أهمية في تحديد تخصصية الاستجابات المحفزة . من الأمثلة الكريز الأرضي *physalis angulata* حيث يرقات الحشرة المتخصصة *H.subflexa* تعاني من المعدلات المنخفضة من تطفل *C.nigriceys* عما هو الحال مع اليرقات العامة *H.virescens* . قوة هذا النظام التجريبي يتمثل في أنه نظام طبيعي وأن نوعي الحشرة *Heliothis* مرتبطان عن قرب حيث أن الأنواع الأقارب تمثل كلا آكلات النباتات الخاصة والعامة . يرقات *H.subflexa* التي تتغذى على ثمار الكريز الأرضي تعاني من نقص حمض لينولينك وهو المكون الفاتح للفوسيثين الذي يحفز الدفاعات غير المباشرة . الفولوسيثين غائب في الإفرازات الفمية لليرقات التي تتغذى على الثمار ومن ثم فإن البدوفيلات المتطايرة للنباتات التي تحفز بسبب التغذية على الثمار تختلف عن تلك التي تحفز بواسطة التغذية على الأوراق النباتية . على العكس فإن اليرقات عامة التغذية *H.virescens* غير قادرة على اكتمال التطور على الثمرة بسبب نقص حامض اللينولينك . في هذا النظام فإن *H.subflexa* تكتسب ميزة اختيارية بواسطة التغذية على الثمار متجنباً إنتاج المحفز وفي النهاية تجنب التطفل . لقد أوضح الباحث أن الاختلافات في جذب شبيه الطفيل للمواد المتطايرة من النبات المحفزة بهجوم آكل النبات لا تساهم في

معدل التطفل المنخفض لـ *H.subflexa* ولو أن تركيزها كان منصبا على تحفيز المواد المتطايرة بواسطة التغذية على الأوراق .

تيسر الترتيبات الدقيقة لأعداد الأنواع النباتية المتنامية تقدم وسائل قوية لفحص تخصصية الدفاعات المحفزة لآكلات النباتات في اتجاه اتساع العائل . المدى العوائي لآكل النبات واستجابات النسخ النباتية درست في أنواع الدخان البري نيكوتينيا اثينيواتا حيث وجد أن استجابات النسخ للتغذية بواسطة المتخصص لنباتات العائلة الخبازية "ماندوكاسيكستا" كانت متميزة عن التغذية بواسطة الحشرات الأكلة العامة "دودة اللوز الأمريكية والدودة القارضة" . الاختلافات في استجابات النباتات كانت مرتبطة ببروفيل محفزات FAC في القيء ولو أن البحث لم يأخذوا في الاعتبار الإسهام الممكن لعوامل اللعاب مثل إنزيم GOX . لقد وجد أن إنزيم GOX يوجد بمستويات عالية في أنواع حشرات حرشفية الأجنحة ولكن لم يكشف عنه في *M.sexta* عندما أجرى التقدير بواسطة نشاط الإنزيم وتفاعله مع الجسم المضاد . من المثير للاهتمام أن عدد الجينات التي تعطل ترتبط جيدا مع وجود GOX أو النباتات التي تغذت عليها يرقات الدودة القارضة وديدان اللوز ذات جينات أكثر تعطيلًا عن النباتات التي يتغذى عليها بواسطة *M.sexta* .

قوة استخدام نظام نبات الدخان - ماندوكا يتمثل في أنه نظام طبيعي درس باستفاضة فيما يتعلق بالاستجابات المحفزة لآكلات النباتات . هذا ولو أن هذا النظام له محدودية تتمثل في أن الترتيب الدقيق يؤدي إلى حزمة مقيدة فقط من ٢٤٠ حشرة *M.sexta* - استجابات مستجيبة . الأرابيدوبسيس تقدم ميزة واضحة بسبب تيسر ترتيب دقيق كبير وغير متحيز لعدد ٧٢٠٠ جين متميز . باستخدام هذا الترتيب الدقيق (Reymond et al. 2004) أنه توجد اختلافات قليلة في بروفيل النسخ بين النباتات التي تتغذى عليها أبو دقيق الكرب (ذات مدى عوائي ضيق) ودودة ورق القطن (مدى عوائي عريض) . لقد وجد المؤلفون أن الإفرازات الفمية OS لأبي دقيق الكرب تحفز جينات عديدة لا تنظم بواسطة حمض الجسمونيك وقد أدت التجارب اللاحقة إلى الاستنتاج بأن FACs ليست مسئولة عن تحفيز الجينات استجابة لحشرة أبي دقيق الكرب خلافا لما أسفرت عنه الدراسة المذكورة أعلاه . نقص الاختلافات بين الاستجابات لحشرة أبي دقيق الكرب ودودة ورق القطن مثيرة للدهشة عندما يؤخذ في الاعتبار الاختلافات في الإفرازات الفمية واللحباب بين هذين النوعين من الحشرات . هذا ولو أن كلا النوعين يعانين من نقص إنزيم GOX اللعابي . لم يتمكن الباحث من الكشف عن GOX في أبي دقيق الكرب وكذلك في دودة ورق القطن . لقد أشار (Reymond et al. 2004) إلى أن الجرح الميكانيكي يحفز جينات عديدة والتي لم تنشط بواسطة تغذية أبي دقيق الكرب مما أدى إلى الاقتراح بأن OS أو اللعاب قد تكون مسئولة عن الخفض كما أتضح مع *H.zea* والدخان (Musser et al.

(2002). هذا ولو أن بروفيل النسخ أظهر اختلافات قليلة أثارت الدهشة بين التغذية بواسطة دودة ورق القطن وأبي دقيق الكرب .

لقد خلصت الدراسات المتلاحقة صعوبة التعميم بين النظم المختلفة بين أكل النبات والعائل النباتي . حتى M.sexta المتخصصة على نباتات العائلة الجنازية تحفز بروفيلات نسخ متميزة عندما تتغذى على العوائل المختلفة مثل نباتات الدخان أو نبات الظل الليلي الأسود "سولانم نيجرم" . توجد تفسيرات عديدة لهذه المخرجات تتضمن أن تركيب اللعاب أو الإفرازات الفمية OS قد تختلف عندما تغير الديدان من عوائلها النباتية ومن ثم تؤثر على التحفيز و/أو الخفض في الدفاعات . كبديل فإنه قد توجد اختلافات في كيفية قيام الأنواع النباتية الخاصة (أو حتى الأصناف) في تمييز إفرازات آكلات النباتات .

٩- اتجاهات المستقبل والرؤى والمنظورية

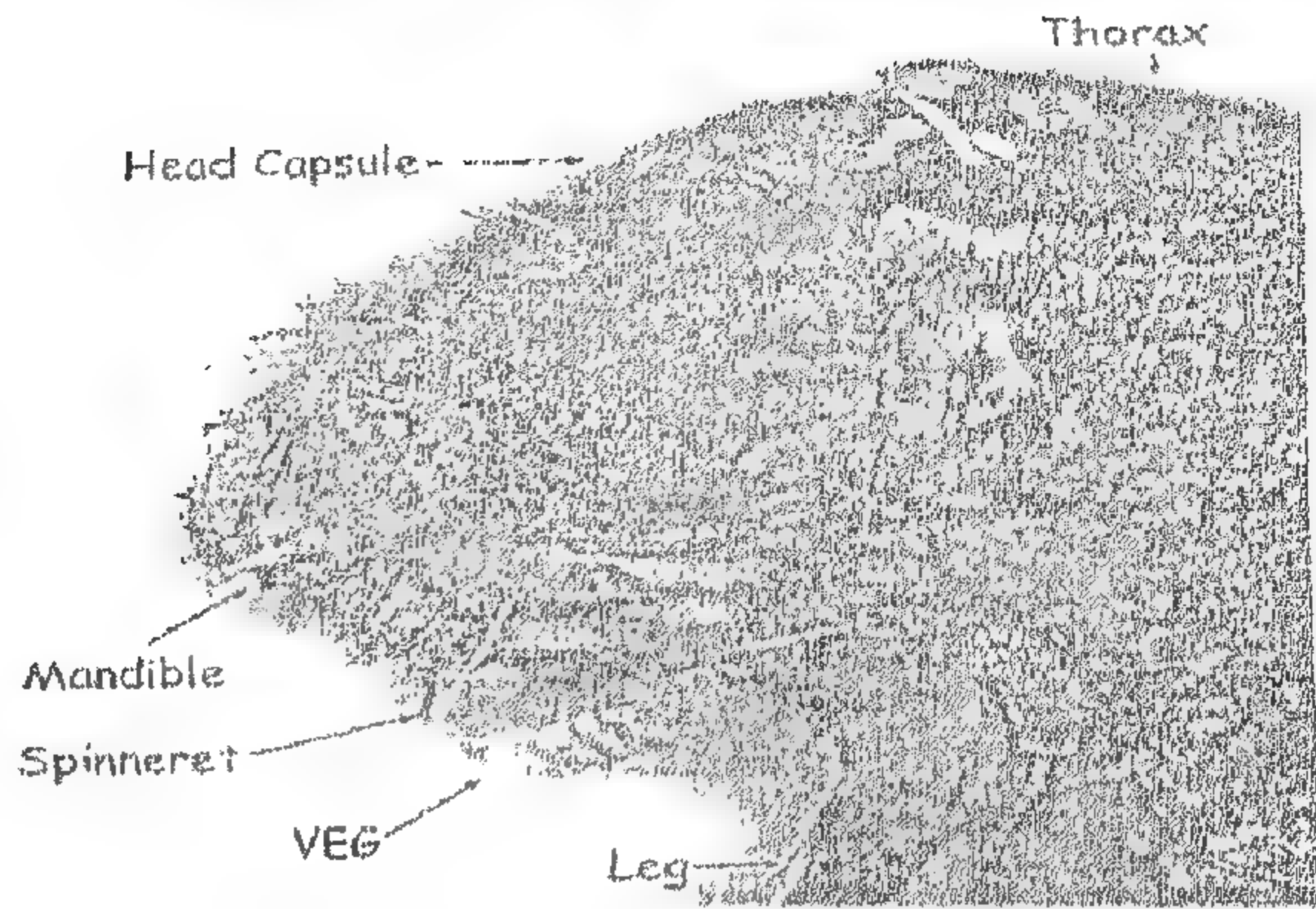
توجد العديد من المتطلبات التي تشكل اتجاه المستقبل في البحوث على إفرازات آكلي النباتات والاستجابات المحفزة . في البداية مع الأخذ في الاعتبار بأن أنواع الحشرات ملتهمة النباتات تفوق في العدد عن المليون وأن إفرازات القليل جداً من هذه الحشرات هي التي تم توصيف إفرازاتها . التحسينات في منظومات البروتينية والتمثيلية تسمح بتحليل الحجم الدقيقة وهذه سوف تساعد في معرفة وتغطية النقاط القاصرة من حيث تعقيدات إفرازات اليرقات من النواحي الكيميائية والوظيفية والترتيب المستمر للمركبات الجديدة سوف يساعد وبدون شك في تعريف النواحي المطلوبة كلما كثرت الأنواع التي يتم فحصها مثل النطاطات .

مع قليل من الاستثناءات فإن التوصيف الكيميائي للإفرازات الفمية OS ليرقات حشرية الأجنحة يركز في معظم الأحوال على FACS بينما ركزت جميع بحوث لعاب حشرية الأجنحة على البروتينات . لحد علم كاتب المقال لا يعرف إلا القليل عن الجزيئات الصغيرة التي توجد في لعابها ولو أن البعض أشار إلى وجود حامض الأسكوربيك والكاروتينويدز وحامض الجسمونيك في الغدد اللعابية بمستويات عالية مع الحمض الأخير ولا يعرف ما إذا كانت هذه الجزيئات تفرز أم لا . إفراز حمض الجسمونيك ذات تأثير واضح في تحفيز الدفاعات النباتية . التحديات التجريبية الأكثر صعوبة تتمثل في جمع حجم كافي من اللعاب لإجراء التحاليل البيوكيميائية ولإجراء التحاليل الصيدلانية مع النباتات . الآن أصبح في الإمكان توفر تكنولوجيا متقدمة للتوصيف البيوكيميائي للجزيئات الصغيرة التي توجد في اللعاب باستخدام طرق HSLC / MC أو GC / MS .

ثانياً فإن قليل جداً من الدراسات تناولت تحليل العلاقة بين الجرعة والاستجابة للإفرازات الفمية OS أو اللعاب عند تحديد التأثيرات على الاستجابات المحفزة . يوجد عدد من الدراسات غير المفسرة التي استخدمت كميات متطابقة من إفرازات OS للاختبار

تعريف خصائص يرفقاتها في الغدة البطنية الممكن قلبها (=VEG) وهو تركيب إفرازي يوجد على السطح البطني لصدر اليرقة (الشكل ١٠-٢). وظيفة هذه الغدة مازال غير معروف ولكن يعرف أنها تفرز ليبيدات وبروتينات مختلفة. يعتقد أن إفرازاتها تقع وتستقر على الوسيط الغذائي بسبب قربها من الفكوك والتجويف الفمي. كذلك يتوقع وجود إفرازاتها في القيء أو في OS عند جمعها. نحن مازلنا في أول الطريق لتحليل مكونات VEG واختبار تأثيراتها على الاستجابات المحفزة.

Light micrograph
of lateral view of head of
larval *Helicoverpa zea*.
VEG = ventral eversible
gland, in distended view.
(Micrograph courtesy of
Michelle Peiffer)



شكل

(١٠-٢): منظر جانبي لرأس يرقة H.zea (=VEG) الغدة البطنية الممكن قلبها في الامتداد.

References

- Aboshi T, Yoshinaga N, Noge K, Nishida R, Mori N (2007) Efficient incorporation of unsaturated fatty acids into volicitin-related compounds in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biosci Biotech Biochem* 71:607-610
- Alborn HT, Brennan MM, Tumlinson JH (2003) Differential activity and degradation of plant volatile elicitors in regurgitant of tobacco hornworm (*Manduca sexta*) larvae. *J Chem Ecol* 29:1357-1372
- Arimura G, Kost C, Boland W (2005) Herbivore-induced, indirect plant defenses. *Biochem Biophys Acta* 1734:91-111
- Baldwin IT, Halitschke R, Kessler A, Schittko U (2001) Merging molecular and ecological approaches in plant-insect interactions. *Curr Opin Plant Biol* 4:351-357
- Bede J, Musser R, Felton G, Korth K (2006) Caterpillar herbivory and salivary enzymes decrease transcript levels of *Medicago truncatula* genes encoding early enzymes in terpenoid biosynthesis. *Plant Mol Biol* 60:519-531

بصرف النظر عن الصلة الوثيقة لأنواع أو أطوار الحشرات التي استخدمت . هناك حاجة ماسة للوقوف على كمية المحفزات الخاصة خلال التغذية لتحقيق تقدم كبير .

ثالثاً أن هناك حاجة لفهم القيمة المتكيفة لمحفزات الحشرة . إذا كان التحفيز للدفاعات المحفزة المباشرة وغير المباشرة يؤثر سلباً على لياقة الحشرات ملتهمة النباتات كما اقترح قبلاً يجب أن يكون هناك ضغط انتخابي قوي لحجب دفاعات العائل هذه . العديد من السيناريوهات ممكنة الحدوث مثل تحجيم عمل المحفزات وهذا يمكن تحقيقه بإنتاج كمية أقل من المحفز أو حجب تأثير المحفز بواسطة مركبات فمية أو لعابية أخرى (Delphin et al. 2006) . هذا ولو أنه توجد تحديات فسيولوجية نحو تحجيم إنتاج المحفزات إذا كانت تؤدي وظائف فسيولوجية حيوية خطيرة . في حالة FACs فإن وظيفتها أو وظائفها غير معروفة ولكنها قد تعمل كمواد نشطة سطحياً في المعدة و/أو تسهل امتصاص المواد المغذية . تفعيل الجينات التي تنظم تخليقها الحيوي سوف يسهل استخدام الاقترابات الجزيئية مثل تداخل RNA لفحص وظيفتها في داخل الكائن . من الاستراتيجيات الأخرى لتفادي دفاعات العائل ما يتمثل في تحفيز مسار منافس - واحد من تلك التي تنظم العبور السلبي مع مسار الجسمونات (مثل الساليسيلات) . لقد لوحظ الاقتراب الأخير مع العديد من الطرز الممرضة لبكتيريا بسيدوموناس سيرنجيا على حساب المقاومة الجهازية التي تعتمد على الساليسيلات ولا يعرف حتى الآن ما إذا كانت ملتهمات النباتات تستخدم هذه الاستراتيجية أم لا .

رابعاً فإن هناك حاجة لفهم كيفية إحداث الفعل والمواضع المستهدفة للمحفزات . لا يعرف إلا القليل جداً على المستوى الجزيئي كيف أن النباتات تميز المحفزات مثل FACs وكيف تنشط حينئذ استجابات النسخ . لقد تحصل على أدلة عن التداخل بين المحفز والبروتين من الدراسات على نقل أو غسيل الذرة حيث اتضح أن مكونات غشاء البلازما يربط الفوليسثين (Truitt et al. 2004) . معاملة الأوراق بالميثيل جسمونات زاد من ارتباط الفوليسثين مع مكون غشاء البلازما . هناك حاجة لدراسات إضافية لتحديد ما إذا كان بروتين أو بروتينات غشاء البلازما يعمل كناقل غشائي و/أو كمستقبل لشلالات الرسول الثانوية النشطة .

في النهاية فإن تركيب غدي إضافي قد يكون هاماً في الإفراز خلال تغذية آكل النباتات . هناك زعم غير حقيقي بأن حشرات حرشفية الأجنحة تمثل العائلة الأكبر حيث تم

- Carroll MJ, Schmelz EA, Meagher RL, Teal PEA (2006) Attraction of *Spodoptera frugiperda* larvae to volatiles from herbivore-damaged maize seedlings. *J Chem Ecol* 32:1911-1924
- Delphia C, Mescher M, Felton GW, De Moraes CM (2006) The role of insect-derived cues in eliciting indirect plant defenses in tobacco, *Nicotiana tabacum*. *Plant Signal Behav* 1:243-250
- Eichenseer H, Murphy JB, Felton GW (2002) Sequestration of host plant carotenoids in the larval tissues of *Helicoverpa zea*. *J Insect Physiol* 48:311-318
- Felton GW, Eichenseer H (1999) Herbivore saliva and its effects on plant defense against herbivores and pathogens. In: Agrawal AA, Tuzun S, Bent E (eds) *Induced plant defenses against pathogens and herbivores*. APS Press. St. Paul, pp 19-36
- Giri AP, Wunsche H, Mitra S, Zavala JA, Muck A, Svatos A, Baldwin IT (2006) Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*. VII. Changes in the plant's proteome. *Plant Physiol* 142:1621-1641
- Gomez SK, Cox MM, Bede JC, Inoue K, Alborn HT, Tumlinson JH, Korth KL (2005) Lepidopteran herbivory and oral factors induce transcripts encoding novel terpene synthases in *Medicago truncatula*. *Arch Insect Biochem Physiol* 58:114-127
- Hartley SE, Lawton JH (1987) Effects of different types of damage on the chemistry of birch foliage, and the responses of birch feeding insects. *Oecologia* 74:432-437
- Howard RW, Baker JE (2004) Stage-specific surface chemicals of *Plodia interpunctella*: 2-acyl-1,3-cyclohexanediones from larval mandibular glands serve as cuticular lipids. *Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol* 138:193-206
- Jarosz J (1993) Induction kinetics of immune antibacterial proteins in pupae of *Galleria mellonella* and *Pieris brassicae*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 106:415-421
- Karim S, Ramakrishnan VG, Tucker JS, Essenberg RC, Sauer JR (2004) *Amblyomona americanum* salivary glands: double-stranded RNA-mediated gene silencing of synaptobrevin homologue and inhibition of PGE2 stimulated protein secretion. *Insect Biochem Mol Biol* 34:407-413
- Kessler A, Baldwin IT (2002) Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Ann Rev Plant Biol* 53:299-328
- Kramer KJ, Spiers RD, Lookhart G, Seib PA, Liang YT (1981) Sequestration of ascorbic acid by the larval labial gland and hemolymph of the tobacco

- hornworm, *Manduca sexta* L (Lepidoptera, Sphingidae). *Insect Biochem* 11:93-96
- Lawrence SD, Novak NG (2004) Maize genes induced by herbivory and volicitin. *J Chem Ecol* 30:2543-2557
- Liu F, Cui L, Cox-Foster D, Felton GW (2004) Characterization of a salivary lysozyme in larval *Helicoverpa zea*. *J Chem Ecol* 30:2439-2457
- Major IT, Constabel CP (2006) Molecular analysis of poplar defense against herbivory: comparison of wound- and insect elicitor-induced gene expression. *New Phytol* 172:617-635
- Miles PW (1999) Aphid saliva. *Biological Reviews* 74:41-85
- Musser RO, Cipollini DF, Hum-Musser SM, Williams SA, Brown JK, Felton GW (2005a) Evidence that the caterpillar salivary enzyme glucose oxidase provides herbivore offense in solanaceous plants. *Arch Insect Biochem Physiol* 58:128-137
- Mutti NS, Park Y, Reese JC, Reeck GR (2006) RNAi knockdown of a salivary transcript leading to lethality in the pea aphid, *Acythosiphon pisum*. *J Insect Sci* 6:38
- Nomura K, Melotto M, He SY (2005) Suppression of host defense in compatible plant *Pseudomonas syringae* interactions. *Curr Opin Plant Biol* 8:361-368
- Orozco-Cardenas ML, Narvaez-Vasquez J, Ryan CA (2001) Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. *Plant Cell* 13:179-191
- Peiffer M, Felton GW (2005) The host plant as a factor in the synthesis and secretion of salivary glucose oxidase in larval *Helicoverpa zea*. *Arch Insect Biochem Physiol* 58:106-113
- Reymond P, Bodenhausen N, Van-Poecke RMP, Krishnamurthy V, Dicke M, Farmer EE (2004) A conserved transcript pattern in response to a specialist and a generalist herbivore. *Plant Cell* 16:3132-3147
- Roda A, Halitschke R, Steppuhn A, Baldwin IT (2004) Individual variability in herbivore-specific elicitors from the plant's perspective. *Mol Ecol* 13:2421-2433
- Royer C, Jalabert A, Da Roche M, Grenier AM, Mauchamp B, Couble P, Chavancy G (2005) Biosynthesis and cocoon-export of a recombinant globular protein in transgenic silkworms. *Transgenic Res* 14:463-472
- Schmidt DD, Voelckel C, Hartl M, Schmidt S, Baldwin IT (2005) Specificity in ecological interactions attack from the same Lepidopteran herbivore

- results in species-specific transcriptional responses in two Solanaceous host plants. *Plant Physiol* 138:1763-1773
- Stout MJ, Workman KV, Bostock RM, Duffey SS (1998) Specificity of induced resistance in the tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Oecologia* 113:74-81
- Tumlinson JH, Lait CG (2005) Biosynthesis of fatty acid amide elicitors of plant volatiles by insect herbivores. *Arch Insect Biochem Physiol* 58:54-68
- Turlings TCJ, Tumlinson JH, Lewis WJ (1990) Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science* 250:1251-1253
- Uppalapati SR, Ayoubi P, Weng H, Palmer DA, Mitchell RE, Jones W, Bender CL (2005) The phytotoxin coronatine and methyl jasmonate impact multiple phytohormone pathways in tomato. *Plant J* 42:201-217
- Valenzuela JG (2002) High-throughput approaches to study salivary proteins and genes from vectors of disease. *Insect Biochem Mol Biol* 32:1199-1209
- Von Dahl CC, Havecker M, Schlogl R, Baldwin IT (2006) Caterpillar-elicited methanol emission: a new signal in plant-herbivore interactions. *Plant J* 46:948-960
- Williams L, Rodriguez-Saona C, Pare PW, Crafts-Brandner SJ (2005) The piercing-sucking herbivores *Lygus hesperus* and *Nezara viridula* induce volatile emissions in plants. *Arch Insect Biochem Physiol* 58:84-96
- Wu J, Hettenhausen C, Meldau S, Baldwin IT (2007) Herbivory rapidly activates MAPK signaling in attacked and unattacked leaf regions but not between leaves of *Nicotiana attenuata*. *Plant Cell* 19:1096-1122
- Yan ZG, Wang CZ (2006) Similar attractiveness of maize volatiles induced by *Helicoverpa armigera* and *Pseudaletia separata* to the generalist parasitoid *Campoletis chlorideae*. *Entomol Exp Appl* 118:87-96
- Yoshinaga N, Kato K, Kageyama C, Fujisaki K, Nishida R, Mori N (2006) Ultraweak photon emission from herbivory-injured maize plants. *Naturwissenschaften* 93:38-41
- Zhao Y, Thilmony R, Bender CL, Schaller A, He SY, Howe GA (2003) Virulence systems of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* promote bacterial speck disease in tomato by targeting the jasmonate signaling pathway. *Plant J* 36:485-499
- Zong N, Wang CZ (2004) Induction of nicotine in tobacco by herbivory and its relation to glucose oxidase activity in the labial gland of three noctuid caterpillars. *Chenese Sci Bull* 49:1596-1601

ثانياً : الإشارات المشتقة من الحامض الدهني التي تحفز أو تنظم دفاعات النباتات ضد آكلي الأوراق

Fatty Acid-Derived Signals that Induce or Regulate Plant Defenses Against Herbivory

James H. Tumlinson and Juergen Engelberth

حمض الجسمونيك وغيره من مشتقات حمض اللينولينيك تنتج في النباتات بواسطة مسار أوكتاديكانويد وكذلك مشتقات الحامض الدهني ذات الستة ذرات الكربون والتي يطلق عليها مركبات الورقة الخضراء تلعب أدواراً رئيسية في تنظيم دفاعات النباتات ضد آكلات الأوراق . كذلك وجد مقترنات حامض اللينولينيك مع الجلوتامين والجلوتامات في قىء العديد من يرقات حشرية الأجنحة وكذلك في الحفارات ويرقات الدروسوفيلا . في جميع هذه الحالات فإن بادئ حمض اللينولينيك للمركب المنظم ينتج بواسطة النبات الذي يتغذى عليه الحشرة . حديثاً تم عزل وتعريف المحفزات من المواد المتطايرة النباتية تحتوي على شق حمض دهني من ١٦ ذرة كربون سواء مع سلسلة مشبعة أو رابطة زوجية عند ذرة الكربون السادسة في السلسلة من بصاق النطاطات . أصل ومنشأ محفزات النطاطات غير معروفة حتى الآن . كذلك لا يعرف عن مدى نشاط المحفزات التي تنتج بواسطة آكلي النباتات عبر الأنواع النباتية . بالإضافة إلى ذلك فإنه مازال غير مفهوم الميكانيكيات التي تعمل من خلالها مركبات الأوراق الخضراء والمحفزات في تحضير تفاعلات الدفاع في النباتات ولو أنه يبدو أنها تؤثر على مسار الأوكتاديكانويد في المسارات المختلفة .

JH. Tumlinson

Department of Entomology , Pennsylvania State University park , PA
16802 , USA

e-mail ; jht2@psu.edu

A. Schaller (ed.) Induced plant Resistance to Herbivory , © Springer
Science + Business Media B.V. 2008

١ - مقدمة

عندما تقوم يرقة حرشفية الأجنحة بقرض الورقة فإنه يحدث توجيه لسلسلة من التفاعلات التي تمكن النبات من الدفاع ضد أكل النباتات وتحجيم الضرر . ميكانيكيات الدفاع البيوكيميائية للنباتات متقدمة جداً حيث قد تعمل مباشرة ضد آكلي النباتات بواسطة منع التغذية أو تثبيط الهضم . كبداية فإن الدفاعات غير المباشرة قد تحفز مما يؤدي إلى انطلاق خليط معقد من المركبات العضوية المتطايرة (VOCs) لتطويع الأعداء الطبيعية والطفيليات والمفترسات لآكلات النباتات . تخصصية استجابات النبات للحشرات مثيرة للدهول . الضرر الميكانيكي وحده كمثال يحفز تفاعلات دفاع النباتات والذي يختلف في معظم الحالات عن الدفاعات المحفزة بالحشرات والتي تتضمن وضع واستقرار المواد المشتقة من الحشرات على النبات المحطم (Arimura et al. 2004) . مخاليط المواد المتطايرة VOCs المحفزة بأكل الأوراق والتي تنطلق بواسطة النباتات خلال النهار تختلف بشكل درامي عن المخاليط المحفزة التي تنتج ليلاً (Loughrin et al. 1994) . هذا بينما مخاليط المواد المتطايرة النهارية تجذب الأعداء الطبيعية فإن المخاليط الليلية قد تمنع وضع البيض بواسطة ملتهمة النباتات الحشرية . مهاجمة أنواع مختلفة من آكلات النباتات على نفس النوع / أو الصنف النباتي يحفز إطلاق مخاليط مختلفة من المواد المتطايرة العضوية VOCs كما أن الأعداء الطبيعية تستطيع التمييز بين النباتات التي هوجمت بواسطة العائل وتلك التي هوجمت بدون العائل على أساس تركيب الخليط (DeMoraxs et al . 1998) . بالإضافة إلى ذلك فإن النباتات تستجيب جهازياً لهجوم أكل الأوراق مع الأوراق غير التالفة والتي تنطلق مخاليط VOC تختلف في التركيب عن المخاليط التي تنطلق من الأوراق التالفة بواسطة آكلات النباتات (Rose et al. 1996) .

الهجوم والهجوم المضاد تنظم بواسطة العديد من الإشارات الكيميائية التي تنظم العلاقة بين النبات و آكلات الأوراق . الحشرات ملتهمة النباتات تنتج كيميائيات في لعابها و/ أو القيء الذي يوجه تفاعلات الدفاع النباتية . آكلات النباتات قد تنتج كذلك مواد تضاد أو تغير من تفاعلات الدفاع في النباتات . النباتات الواقعة تحت هجوم آكلات الأوراق تخلق وتنطلق مخاليط مواد عضوية متطايرة VOC والتي تدرك وتجذب الأعداء الطبيعية لآكلات النباتات . هذه المخاليط أو المكونات قد تدرك أيضاً بواسطة النباتات المجاورة وتعمل كإشارات تحذيرية قفز النباتات المستقبلية لتجهيز دفاعاتها ضد الهجوم المتوقع (Ton et al. 2007) . الإشارات الداخلية كذلك تلعب دوراً في إيداء وتنظيم دفاعات النبات . بوجه خاص يعتقد أن مسار الأوكتاديكانويد يعتقد أنه يلعب دوراً كبيراً في الاستجابة لأكل النبات وبداية وتنظيم ميكانيكيات الدفاع الكيميائية .

في كل من هذه الحالات فإن مشتقات الحمض الدهني أو نواتج التمثيل تعمل كإشارات فاتحة أو مكونات الإشارات والتي تعول التفاعلات البيوكيميائية والتدخلات .

أهمية الأحماض الدهنية في هذه العمليات قد تكون وببساطة ناتجة من محدوديتها في الطبيعة وأدوارها كمصادر للطاقة وبادئات التخليق الحيوي للعديد من المركبات الهامة في النباتات والحيوانات . مقدرتها على التحويل بواسطة تفاعلات الاقتران مع جزيئات أخرى مثل الأحماض الأمينية أو بواسطة الأكسدة أو الاختزال لتغيير ذوبانيتها وتفاعلاتها والخواص الأخرى التي تجعل منها مواد وسيطة ممتازة كما ستذكر فيما بعد فإنها مكونات للإشارات الداخلية والخارجية التي تنظم تفاعلات الدفاع في النباتات ضد هجوم آكلات النباتات الحشرية .

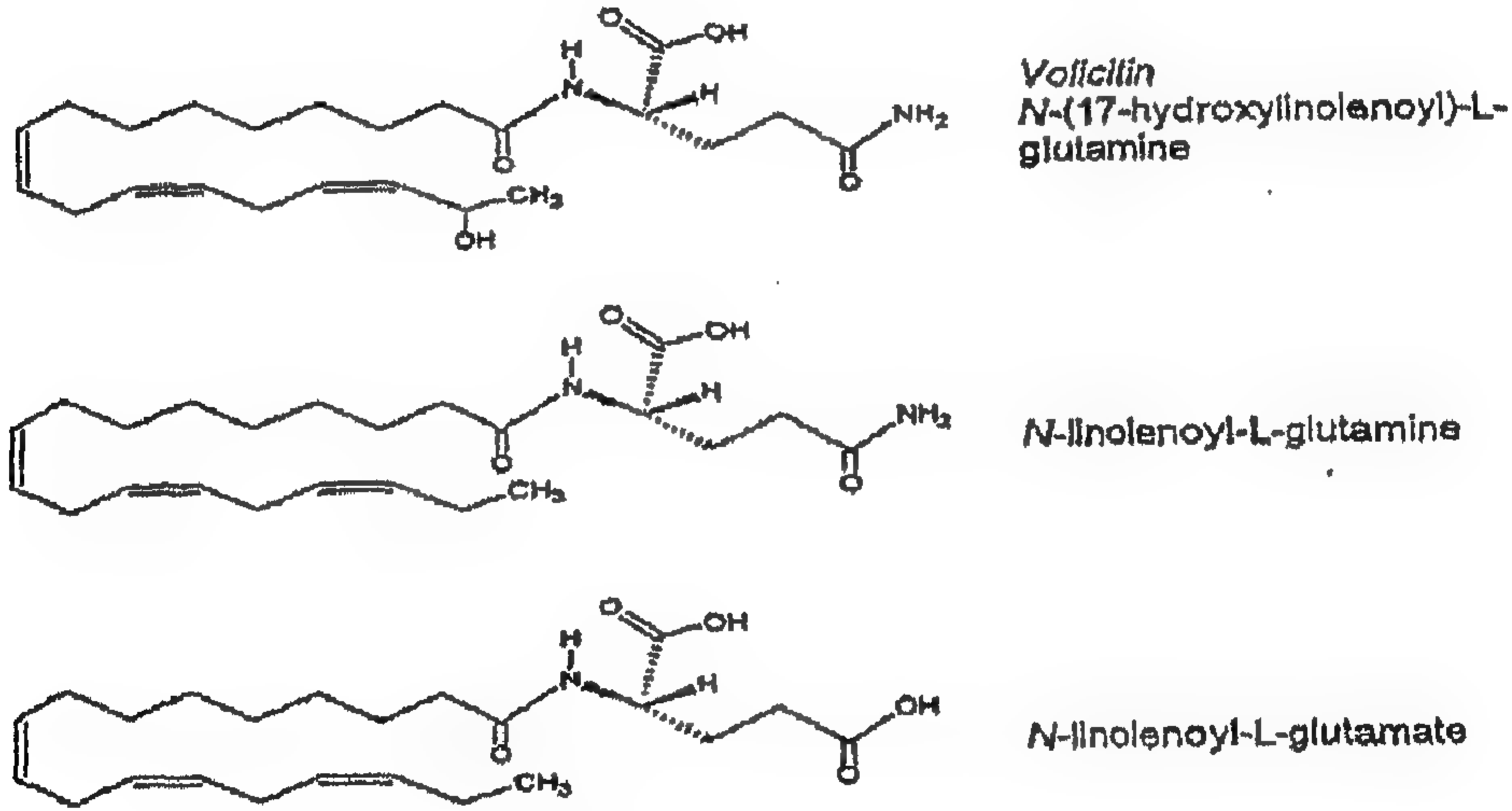
٢- محفزات دفاع النباتات التي تنتج بواسطة آكلات العشب الحشرية

٢-١- مقترنات الحمض الدهنى - الحمض الامينى

أول محفز غير بروتينى للمواد المتطايرة النباتية تم اكتشافه في الحشرات آكلة النباتات حيث تم عزله وتعريفه من قىء الدودة القارضة للبنجر *S. exigua* عزل وتعريف هذا المركب N- (17 - hydroxylinolenoyl) - L - glutamine والمسمى فوليسيتين Volicitin (الشكل ١٠-٣) بنى على أساس مقدرته على تحفيز بادرات الذرة لإطلاق المركبات المتطايرة (Alborn et al. 1997) . بعد ذلك تم الكشف عن مقترنات أخرى للحمض الدهنى - الحمض الأمينى (FACs) في الإفرازات الفمية أو سوائل قىء العديد من يرقات الديدان (Pare et al. 1998) . الخصائص الشائعة لمقترنات FACs المشتقة من الحشرات اكتشفت وكان من أهمها وجود إما L - أو L- جلوتاميك أسيد المرتبط عبر رابطة الأميد إلى حمض اللينولينيك . المحفزات الأكثر فاعلية في مجموعة FACs هذه بناء على التقييم الحيوى أجريت على بادرات الذرة والدخان كانت مشتقات حمض اللينولينيك (الشكل ١٠ - ٣) .

المركبات الثلاثة الموضحة في الشكل (١٠-٣) أتضح أنها جميعاً محفزات للمواد العضوية المتطايرة النباتية ولو أنها ذات أنشطة متفاوتة (Halitschke et al. 2001) . في بادرات الذرة وجد الباحث أن المقترنات تعاني من نقص الأيدروكسيل على ذرة الكربون (١٧) لحمض اللينولينيك لأقل من نصف النشاط عن الفوليسيتين . في توافق أشار Sawadu et al. (2006) أن N- لينولينويل -L- جلوتامين له ٣٠% فقط من نشاط الفوليسيتين مما يعضد أهمية الأيدروكسيل على الكربون (١٧) لحدوث النشاط الحيوى . توجد قليل من المعلومات الميسرة عن النشاط الخاص لهذه المركبات أو مشتقاتها على النباتات الأخرى ولكنه في بعض الأنواع وجد أن لها تأثير أو نشاط قليل إن لم يكن لها أصلاً المحفز الأكثر نشاطاً على بادرات الذرة الفوليسيتين يحتوى على ذرتى كربون غير متماثلتين . من المثير للاهتمام أن الفوليسيتين المخلوق الذى عمل مع D- جلوتامين لا يحفز انبعاثات المواد المتطايرة عندما استخدم على النباتات (Alborn et al. 2000) . على

العكس فإن تناسق الكربون (١٧) في سلسلة حامض اللينولينيك الذي ترتبط بها مجموعة الأيدروكسيل في الفوليستين لا يبدو أنها حرجة أو تمثل دور حرج في النشاط والفاعلية في العمل الأول ولو أن البحوث لم يقدموا بتحديد التناسق على ذرة الكربون (١٧) في الفوليستين الطبيعي من يرقات الدورة القارضة التي تصيب البنجر إلا أنه وجد أن الفوليستين المخلوق وهو راسيمي عند هذا الموضع يبدو متساوياً في الكفاءة للمحفز الطبيعي حيث يحفز إطلاق المواد المتطايرة في بادرات الذرة (Tumlinson et al. 2000). بينما التناسق المطلق للفوليستين من الأنواع العديدة من يرقات حرشفية الأجنحة حددت حديثاً على أنها (S) إلا أن هذا لا يبدو ذات صلة وثيقة بالنشاط الحيوي. لقد وجد (Sawada et al. 2006) عدم وجود اختلافات كبيرة في كمية المواد المتطايرة المنطلقة من بادرات الذرة المحفزة مع الفوليستين (17S) أو (17R). لذلك يكون من الواضح أنه في بادرات الذرة فإن تناسق ذات الكربون غير المتماثلة في الجلوتامين أكثر دوراً محدداً عما هو الحال مع C17 الهيدروكسيلية لحامض اللينولينيك في تحفيز التخليق الحيوي وإطلاق المركبات العضوية المتطايرة.



شكل (١٠-٣): تراكيب مقترنات حمض اللينولينيك - الحمض الأميني الذي وجدت فعالة كمحفزات لإطلاق VOC في بادرات الذرة. هذه المركبات ومشتقاتها لحمض اللينولينيك وجدت في قىء يرقات العديد من أنواع حرشفية الأجنحة وحديثاً وجدت في يرقات الحفارات والدروسوفيللا. الترتيب على الكربون (١٧) وجد أنه (S) في الفوليستين المعزول من الحشرات. ولكن كلا - (17R) و (17S) - فوليستين وكذلك المركب الراسيمي متساوية في الفاعلية عندما استخدمت على بادرات الذرة.

فى معظم الحالات التى وصفت قبلاً فإن النباتات التى أثيرت بواسطة الحشرات ملتهمة النباتات أو التى عوملت بقىء اليرقات تطلق كميات أكبر نسب مختلفة من المواد المتطايرة VOCs عما هو الحال مع النباتات التى تثار ميكانيكياً فقط (Wei et al. 2006) مع بعض الأنواع مثل فول اللبما فإن التلف الميكانيكى الشديد أتضح أنه يؤدى إلى إطلاق كميات كبيرة من VOCs ويبدو أن هذه النباتات لا يستجيب للمحفزات المشتقة من الحشرات (Spiteller et al. 2001). هذا وبالرغم من أن حقيقة أن أشباه الطفيليات المتخصصة تستطيع أن تميز المركبات المتطايرة المحفزة بواسطة يرقات العائل عن تلك التى تحفز بواسطة يرقات غير العائل حتى لو تغذت كلا نوعى اليرقات على نفس النوع أو صنف النبات فى نفس الموقع (De Moraes et al. 1998) وقد أتضح أن الحشرة آكلة النباتات المنتجة للمواد قد تلعب دوراً محدداً فى تحفيز دفاعات النبات والمخاليط المتطايرة الخاصة من أكالات الأوراق.

بينما يبدو أن FACs وجد فى معظم يرقات حرشفية الأجنحة فإنه حتى الآن لا يعرف كيف حدث الانتشار العريض لهذه المحفزات بين الرتب الأخرى من الحشرات. حديثاً جداً اكتشف (Xoshinaga et al. 2007) مركبات ن - لينولينويل و ن - لينولينويل جلوتامات وكذلك FACs الهيدروكسيلية ومقترنات جلوتامين من قىء نوعين متقاربين من النطاطات وفى يرقات الدروسوفيللا. هذا ولو أن (Halitschke et al. 2001) أشار إلى أن FACs وجدت فى الإفرازات الفمية لحشرة ماندوكاسيكتا كانت ضرورية وكافية لاستجابات النباتات الخاصة بأكالات الأوراق كما أن المحفزات FACs ليست هى المركبات الوحيدة التى تنتج بواسطة اليرقات الحشرية القارضة مع مقدرة على تحفيز تفاعلات الدفاع بواسطة النباتات أو قد تؤثر على النواحي البيوكيميائية لها. لقد أشار (Schmelz et al. 2006) إلى إنطلاق المركبات المتطايرة المحفزة فى بادرات الفاصوليا التى تغذت عليها ديدان الدودة القارضة. ولو أن Volicihin و N - لينولينويل -L- جلوتامين وجدت فى قىء هذه اليرقات فإنها فشلت فى تنشيط أى استجابة بشكل ملحوظ. أدت هذه النتيجة إلى اكتشاف Inceptin وهو محفز ببتيدى جديد فى المواد المتطايرة من البسلة من قىء الدودة القارضة. عندما تغذت اليرقة على النبات فإن FACs والإنزيمات وغيرها من المركبات الناتجة من اليرقات الأخرى وكذلك المركبات المشتقة من النباتات والتى لم تعرف بعدما أصبحت تلعب دوراً ولها تأثيراً كبيراً على استجابة النبات. هذه العوامل قد تختلف بشكل كبير بين أنواع يرقات حرشفية الأجنحة المختلفة وهذا التباين وبدون شك تمثل بعض من تنوع استجابات النباتات على الأقل بما فيها الاختلافات الملحوظة فى مخاليط المواد المتطايرة المنبعثة. أظهرت الأدلة الحديثة أن الجلوكوز اكسيديز (GOX) تحدث بتركيزات عالية فى لعاب حشرة H.Zea عما هو الحال مع H.Virescens وهذا قد يؤثر على التخليق الحيوى المحفز بمركب FAC

للمركبات العضوية المتطايرة في النباتات . أكسدة الجلوكوز في النباتات بواسطة GOX اللعابي في حشرة H.Zea تؤدي إلى زيادة في حامض الجلوكونيك وكذلك في فوق أكسيد الأيدروجين H_2O_2 وهو المركب الذي يوجه الزيادة في حامض السلسيليك الحر SA والاثيلين . لقد أتضح أن الاثيلين يغير الانبعاث المحفز للمواد المتطايرة ولذلك فإن المستويات العالية من نشاط إنزيم GOX في لعاب H.Zea مما يفسر جزئياً كيف أن التغذية عليها تنشط النباتات لإنتاج مخاليط من المواد المتطايرة التي تختلف عن تلك التي حفزت بواسطة تغذية H.Virescens لذلك ولو أن المحفزات FAC تعتبر عوامل محددة فإنه في النهاية فإن كل الوسائط للتداخلات بين النبات والحشرة يجب أن تفعل وتأثيراتها المحددة على المواد البيوكيميائية النباتية والتعبير الجيني تحدد قبل أن يحدث الفهم الكامل لهذه التداخلات .

عند الأخذ في الاعتبار كفاءة بعض مركبات FACs كمحفزات في الانبعاثات المتطايرة في النباتات ومن ثم تجذب الأعداء الطبيعية لليرقات ولذلك برزت أسئلة في حاجة إلى الإجابة : لماذا تقوم اليرقات بتجهيز FAC على الإطلاق . لقد خلص الباحثون أن FAC's تعمل ببساطة كمواد ذات نشاط سطحي أو مواد مساعدة على الاستحلاب Emulsifiers في معدة اليرقات (Spiteller et al. 2000) . هذا ولو أنه من غير الواضح لماذا تقوم اليرقات على وجه الخصوص بتخليق مركب N- لينولينويل-L-جلوتامين عندما تكون الأحماض الأمينية الأخرى أو الأحماض الدهنية بقدرة عالية مواد FAC ذات نشاط سطحي مناسبة Surfactants دون تحفيز استجابة دفاعية في النباتات . من الواضح FAC المعتمد على الجلوتامين / جلوتامين وكذلك تعتمد على حامض اللينولينيك يجب أن تلعب دوراً محدداً في تمثيل اليرقات أو الفسيولوجي والتي حدث فيها إزالة خلال النشوء . من المثير للاهتمام ملاحظة أن حامض اللينولينيك والجلوتامين الغذائي كلاهما ضروري لبقاء معظم يرقات حرشفية الأجنحة . اليرقات تستطيع إنتاج الأحماض الدهنية Eicosanoid من الأحماض الدهنية عديدة التشعب الخارجية ذات ذرات الكربون الثمانية عشرة (PUFAs) مثل حامض اللينولينيك . هذه المركبات PUFAs ذات الكربون العشرون ذات مكونات تركيبية محددة للأغشية الخلوية وتحت الخلوية كما أن نواتج تمثيل الايكوسانويد نشطة بيولوجياً كمصادر للإشارات وجزيئات تنظيمية .

حديثاً أوضح الباحثان (De Moraes and Mescher (2004 اهتمامات مختلفة في تركيب FAC للإفرازات الفمية ليرقات H.subflexa التي تغذت على ثمار عائلها النباتية Physalis and ulata واليرقات المرافقة التي تغذت على أوراق نفس النوع النباتي . الثمار تعاني من عدم وجود كمية يمكن تقديرها من حامض لينولينيك واليرقات التي تغذت على الثمار لم تنتج كميات يمكن الكشف عنها من الفوليستين و N- لينولينويل

L- جلوتامين بينما تلك التي تغذت على أوراق نفس النبات التي لا تحتوي على حامض لينولينيك أنتجت كلا هذين المحفزين FAC . لذلك فإن تركيب مخلوط FAC بشدة بواسطة غذاء اليرقات وهذا يتوافق مع البحث الذي خلص إلى أن شق الحامض الدهني لمحفزات FAC تشتق من الغذاء الذي تتغذى عليه اليرقات (Pare et al. 1998) . الأصل لشقوق الحامض الدهني والحامض الأميني لمحفزات المركبات FAC قدرت بواسطة تغذية يرقات الدودة القارضة *S. exigua* على بادرات الذرة المعلمة إشعاعياً بواسطة الكربون ^{13}C ونموها في جو من ثاني أكسيد الكربون $^{13}\text{CO}_2$. لقد وجد أن الفوليستين في الإفرازات الفمية من اليرقات التي تغذت على البادرات المعلمة إشعاعياً تخلق بواسطة الحشرة عن طريق إضافة مجموعة إيدروكسيل وجلوتامين لحمض اللينولينيك الذي تحصل عليه مباشرة من النبات الذي تغذت عليه . بينما بادىء الحامض الدهني للفوليستين مشتق من النبات فإن المنتج النشط حيويًا يتكون بوجه خاص وحصرًا في اليرقة . لقد أدى ذلك إلى الاقتراح بأن هذه الجزيئات تلعب دوراً هاماً ولو أنه ليس معروفاً بعد سواء في عمليات التمثيل أو غيرها والحرارة في حياة الحشرات ملتهمة النباتات .

لقد اقترح أن واحد من الأنواع العديدة من البكتريا توجد في معدة اليرقات وقد تكون مسئولة عن تخليق FACs . في الحقيقة أتضح أن هذه الكائنات الدقيقة قادرة على اقتران ١٢- فينيل دوديكانويك أسيد مع الجلوتامين في الخارج وقد تلعب دوراً في تخليق أميدات الحامض الدهني بوجه عام . هذا ولو أن معدل التخليق الحيوي كان متناهي في القلة حيث ينتج فقط كمية صغيرة من N-١٢ - فينيل دوديكانويل جلوتامين خلال ساعات قليلة وتتطلب أيام لزيادة الكميات بدرجة كبيرة (Spiteller et al. 2000) . لقد تمت الإشارة أن N- لينولينويل - L - جلوتامين خلقت بواسطة قليل من البكتريا التي عزلت من قىء الدودة القارضة ولو أنه لا توجد بيانات تشير إلى معدل التخليق الحيوي أو الكميات المنتجة . هذا ولو أن المعدل القليل (أطول من ٢٤ ساعة) للتخليق الحيوي البكتيري للفولسيتين لا يمكن أن يمثل التخليق الحيوي السريع المطلوب لتراكم المحفز . معدل التخليق الحيوي يحتاج أن يكون عالياً بما فيه الكفاية للتغلب أو تجنب التحليل المائي التلقائي أو الفوري الانزيمي لمركب FAC السريع نسبياً (أقل من ٨ ساعات) الأصل وراثياً لجدار المعدة وقيء يرقات حرشفية الأجنحة (Mori et al. 2001) . جميع المحاولات التي أجريت لتخليق N- لينولينويل - L - جلوتامين باستخدام المزارع البكتيرية المشتقة من قىء يرقة الدودة القارضة ومهروس النسيج لم تسفر عن دليل يعضد دور البكتريا في التخليق الحيوي لمركب FAC .

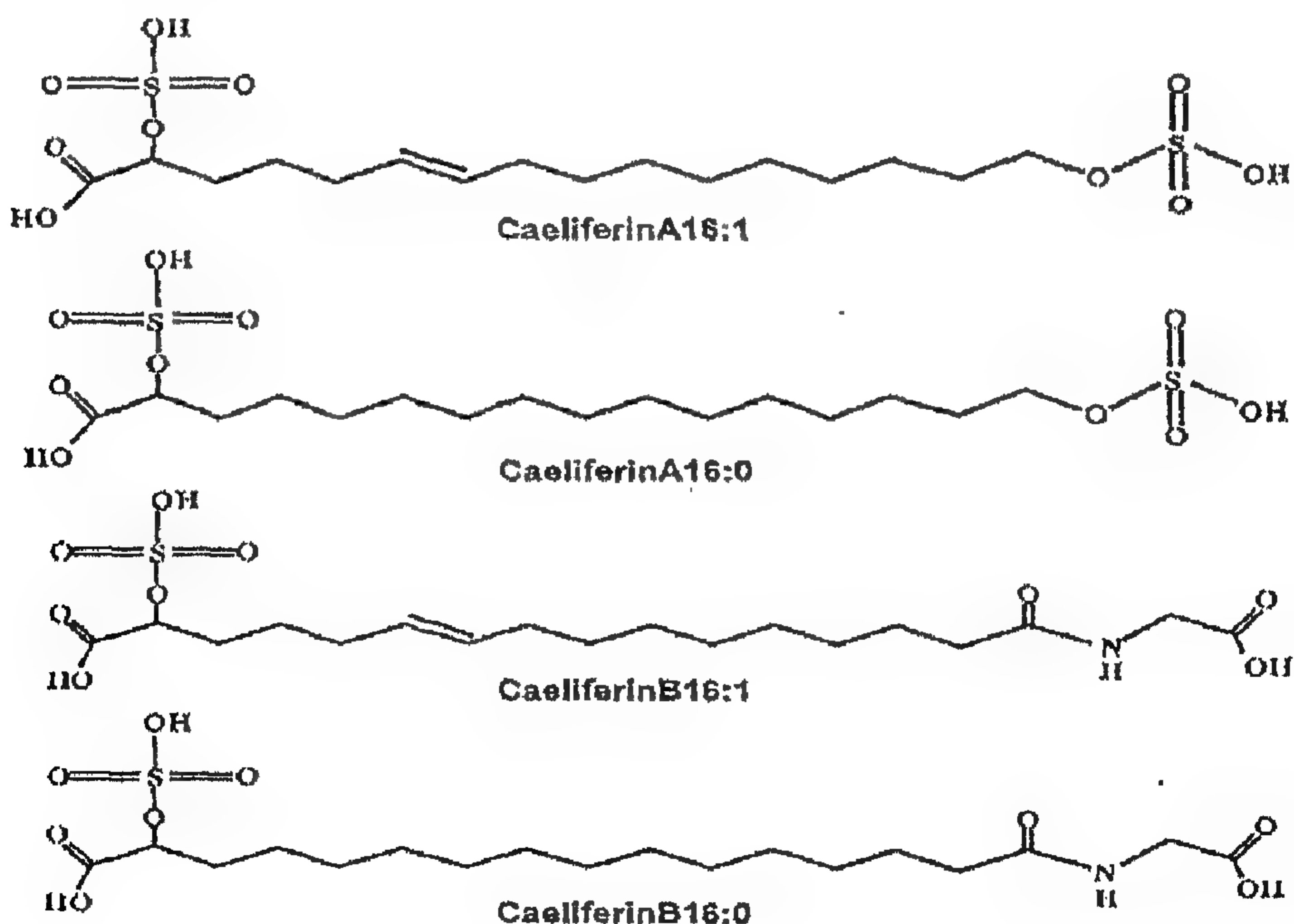
في أنواع حشرات حرشفية الأجنحة أجريت العديد من الدراسات وأتضح منها أن FAC تنتج بواسطة الإنزيمات المغروسة في الغشاء الموجودة في المحصول وأنسجة

المعى الأوسط الأمامية لليرقات (Tumliason and Lait 2005) . حيث أن المحصول بالضرورة امتداد للتجويف الفمى يبدو أن المحفزات التى تنتج فى المحصول تحجب بطريقة ما خلال عملية التغذية كى تلامس أنسجة الورقة التى تلفت بواسطة تغذية اليرقات. فى الحقيقة فإنه ومن خلال دراسة حديثة حيث تم السماح ليرقات الدودة القارضة بالتغذية على بادرات الذرة المعلمة إشعاعياً على ذرة الكربون ^{14}C ثم نقلت لبادرات غير معلمة فإن حوالى 100 Pmol من الفوليستين لكل يرقة تم استخلاصها من الأوراق التالفة بعد 9 ساعات من التغذية . هذه الدراسة أكدت أن FACs تستخدم لإتلاف أنسجة الورقة بواسطة اليرقة التى تتغذى عليها ولكنها لا تعمل كرسول متحركة داخل النبات لتوجيه الانبعاث الجهازى للمركبات العضوية المتطايرة .

ولو أنه مازالت هناك حاجة لمزيد من الدراسات والعمل للفهم الكامل لدور FACs فى التداخلات بين النبات والحشرة فإنه من الواضح أنها تلعب دوراً هاماً ولو أنه غير محدد تماماً فى تمثيل يرقات حرشفية الأجنحة . بالإضافة إلى ذلك فإنها نشيطة فى تحفيز التخليق الحيوى فى بعض وليس فى كل النباتات . يتبقى معرفة كيف يعبر النشاط بشكل عريض نطاق العائلات والأنواع النباتية وما إذا كانت الأنشطة النسبية لمركبات FACs المختلفة تتفاوت فيما بين أنواع النباتات المختلفة .

٢-٢- محفزات الكاليفيرينات من نشاطات الأوراق

لقد تم عزل قسم جديد من المحفزات النباتية المتطايرة التى تنتج بواسطة الحشرات آكلة الأوراق وتم تعريفها من الإفرازات الفمية لأنواع نشاطات الأوراق *Shistocerca*



americana (Alborn et al. 2007) . بعد ذلك وجدت فقط في تحت رتبة مستقيمة الأجنحة Caelifera ومن ثم أطلق عليها الاسم كاليفيرينات Caeliferins . بينما التركيب الأساسي للكاليفيرينات هو الحمض الدهني فإن الاختلافات التركيبية للكاليفيرينات عن FACs مؤكدة وكبيرة جداً (الشكل ١٠-٤) . سلسلة الحمض الدهني كاليفيرين تتفاوت في الطول من ١٥ وحتى ١٩ ذرة كربون ومن ثم اكتشفت كاليفيرينات فقط مشبعة ووحيدة عدم التشبع . كاليفيرين A به هيدروكسيلات مكبرنة على ذرات الكربون \$ و W لسلسلة الحمض الدهني بينما جزيئات الكاليفيرين B عبارة عن أحماض ثنائية مهدر كسلة - oc مع مقترن w - كربوكسيل للجلايسين مشابهة لمركبات FACs . بالإضافة إلى ذلك وجد أن الإفرازات الفمية لنطاط الأوراق تحتوي على سلاسل من المركبات من كل نوع مع أطوال سلاسل تتفاوت من ١٥ وحتى ١٩ ذرة كربون ولكن في الدودة القارضة وجد أن مركبات ذات ١٦ ذرة كربون هي الأكثر وفرة في كل قسم (الشكل ١٠-٤) .

شكل (١٠-٤) : تراكيب الكاليفيرينات ذات ١٦ ذرة الكربون المعزولة من والمعرفة من قىء حشرة النطاط S. americana . المكون الأكثر وفرة في قىء هذه اليرقات هو الكاليفيرين 0 : 16 A . المحفز الأكثر نشاطاً للمركبات المتطايرة VOC من بادرات الذرة هو الكاليفيرين 1 : 16 A .

عزل وتنقية الكاليفيرينات النشطة تم استكشافه مع التقييم الحيوى للمواد المتطايرة لبادرات الذرة . الكاليفيرين 1 : 16 A أكثر فعالية في تحضير انبعاث VOC بين الكاليفيرين 0 : 16 A والكاليفيرين 0 : 16 B أقل فاعلية . المركبات الأخرى في هذه العائلة تتضمن الكاليفيرين 0 : 17 A , 0 : 18 يبدو أنها ذات مستويات منخفضة من النشاط على بادرات الذرة . النشاط الحيوى للكاليفيرينات على الأنواع النباتية الأخرى لم تختبر بعد . إذا أخذ في الاعتبار طبيعة تعدد الالتهام في نطاطات الأوراق وحدوث الكاليفيرينات في جميع أنواع النطاطات التي درست نشعر بالدهشة إذا علمنا أن هذه المركبات ذات طيف عريض من النشاط عبر مدى من الأنواع النباتية . كذلك لا يعرف ما إذا كانت المركبات المتطايرة المنبعثة بواسطة النباتات وفيها النطاطات التي تغذت عليها تجذب الأعداء الطبيعية للنطاطات وإذا حدث ذلك نتساءل عن تأثير المواد المتطايرة المحفزة - مع جذب الأعداء الطبيعية على مجموعة نطاطات الأوراق . هناك إمكانية بديلة بأن المواد المتطايرة التي تحفز بواسطة النطاطات لكل تغذية تجذب أفراد أخرى من النوع وهذا يساعد في تجمع حشرات النطاطات .

في حشرات حرشفية الأجنحة فإن شق الحمض الدهني لمركبات FAC تحصل عليه من النبات أو الغذاء التي تغذت عليه اليرقة والإنزيمات في المحصول والمعى الأوسط تربط الأحماض الدهنية بالجلوتامين . أصل شق الحمض الدهني في الكاليفيرينات في

نشاطات الأوراق لم تتضح بعد . لقد أشار Alborn et al. 2007 أن القىء من نشاطات الأوراق المجموعة من الحقل تختلف في التركيب عن تلك في الحشرات المرباة في المعمل. هذا ولو أن الحشرات البرية أحضرت إلى المعمل فإن التركيب تغير في اتجاه الحيوانات المرباة في المعمل خلال أسبوع بصرف النظر عن الغذاء الذي قدم لها . ما إذا كانت هذه التغيرات ترجع إلى تغيرات غير معروفة في الغذاء أو العوامل الأخرى مثل الزحام مازالت غير معروفة . حيث أن الكاليفيرينات المعروفة ذات أطوال سلاسل من ١٥ وحتى ١٩ ذرة كربون بما فيها السلاسل مع عدد شاذ من ذرات الكربون وحيث أن الرابطة الزوجية في السلسلة " ترانس " فإنه يبدو أن هذه المركبات تشتق مباشرة من الأحماض الدهنية النباتية .

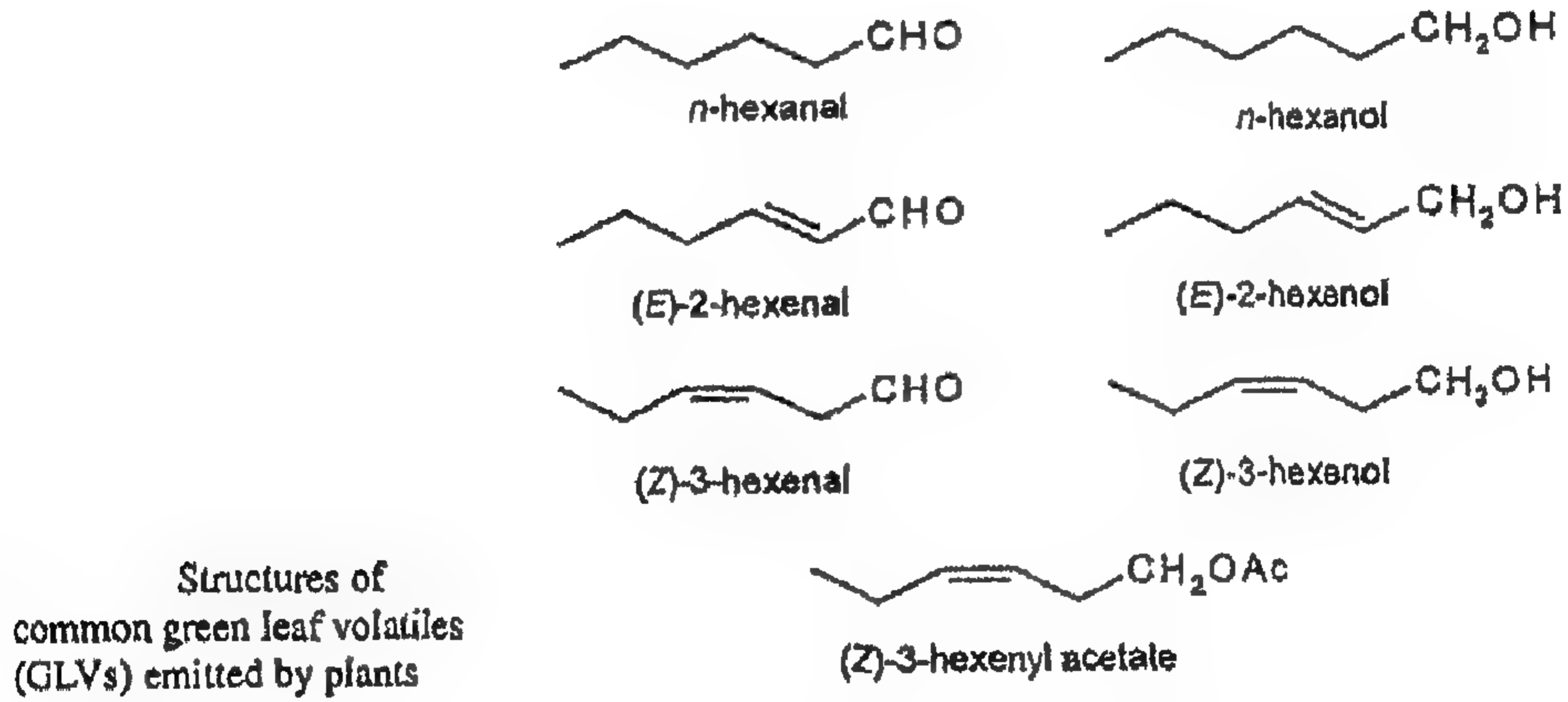
كما هو الحال مع المحفزات FAC تبرز الأسئلة عن أى وظيفة تقوم بها هذه المركبات في نشاطات الأوراق . هذه المركبات قد تلعب دوراً في الهضم حيث أن الكحوليات المكبرنة والمسلقة والأحماض الدهنية معروف عنها أنها مواد ذات نشاط سطحي ومواد مساعدة على الاستحلاب جيدة . كذلك فإن النشاطات تنتج كميات كبيرة من بصاق أو بسود خفيف عند تناولها أو تشويشها ويعتقد أن ذلك يعمل ميكانيكية دفاع . لقد ذكرت العديد من التقارير إلى أهمية مركبات العائل النباتي في كفاءة دفاع بصاق النشاطات وأن هذه المركبات غير المعروف ذوبانها في الماء لها نشاط طارد ضد الأعداء الطبيعية (Ortego et al. 1997) . خصائص الاستحلاب للكاليفيرينات ذات أهمية في السماح للبصاق المائي لحمل المركبات السامة المحبة للدهون .

أظهرت الدلائل الأولية أن بصاق العديد إن لم تكن كل أنواع النشاطات في تحت رتبة الكاليفيرا تحتوي كميات كبيرة عن واحد أو أكثر من الكاليفيرينات . لذلك فإن هذه المركبات لها بعض الأهمية في فسيولوجيا و / أو سلوك هذه المجموعة من الحشرات ولكن وظائفها مازالت في حاجة للتحديد .

٣- المواد المتطايرة في الأوراق الخضراء

خليط المواد المتطايرة المحفزة يعتمد على أكل الأوراق ونوع النبات . هذا ولو أن المكونات الكبرى لهذه الباقات هي التربينات الأحادية والعديدة وكذلك المواد المتطايرة للأوراق الخضراء (GLV's) . بينما معظم المواد المتطايرة تعمل كإشارات في التداخلات ثلاثية الأغذية فإن البعض يبدو أن له وظيفة أو وظائف مباشرة أكثر في استجابة الدفاعات النباتية . في هذا المقام فإن GLVs برزت كقسم من المركبات والتي يبدو الآن أنها تلعب أدواراً هامة في استراتيجيات الدفاع النباتية المتنوعة . عندما تم توصيف GLVs لأول مرة في القرن الماضي نظر إليها على أنها تحويله من مسار يؤدي إلى تروماتين Traumatol وهو أول هورمون جرح وصف في النباتات . لقد تأخرت هذه

الرؤية والآن أصبح مسار التخليق الحيوي لإنتاج GLV مفهوم جيداً (Matsui 2006) . GIVs عبارة عن مركبات مشتقة من الحامض الدهني تكون من أحماض لينولينيك واللينوليك والتي تعمل كمواد وسيطة لمسار ١٣- ليبوكسي جينييز الخاص . الناتج الحمضي الدهني ك ١٨ - ١٣ - هيدروبيروكسي ينقسم حينئذ بواسطة إنزيم هيدروبيروكسيديليز (HPL) منتجاً (Z) -٣- هكسينال (من الأحماض الدهنية ١٨ : ٣) أو الهكسانال (من الأحماض الدهنية ١٨ : ٢) وكذلك على صورة ١٢- أوكسو - (Z) - ٩ - ديكينويك أسيد . العمليات الإضافية للمركب (Z) -٣- هكسانال بواسطة إنزيم الكحول ديهيدروجينييز والأستلة والمثابهاة تؤدي إلى إنتاج المكونات الباقية ذات ذرات الكربون الستة مثل (Z) -٣- هكسينول ، Z -٣- هكسينيل أسيتات والمقابل (E) -٢- المثابهاة (الشكل ١٠-٥) . حديثاً قام D' Auria et al. (2007) بتوصيف إنزيم BAPH أسيتيل ترانسفيريز في نباتات الأرابيدوبسيس وهي المسؤولة عن أستلة (Z) - ٣- هكسينول . GLVs في الغالب تنطلق موضعياً بعد حدوث الجرح (Hatanaka 1993) ولكنها يمكن أن تنتج وتنطلق جهازياً كذلك استجابة للضرر بواسطة أكلات الأوراق . إلى جانب ارتباطها بالأنسجة الخضرية فإن GLVs تعتبر مكونات كبرى للمواد المتطايرة التي تطلق بواسطة الأزهار والثمار .



شكل (١٠-٥) : تراكيب المواد المتطايرة من الأوراق الخضراء (GLVs) المنبعثة من النباتات

٣-١- GLVs ودفاع النبات

الوظائف المتنوعة لمركبات GLVs في دفاعات النبات تتضمن التأثيرات المباشرة عند هجوم الممرضات وأكلات النباتات وكذلك كأدوار وكإشارات متطايرة وداخل النباتات. أظهرت الدراسات الحديثة أن GLVs تعمل كمضادات بكتيرية ووسائل مضادة

للفطريات سواء مباشرة أو من خلال تحفيز الفيتوأكسينات (Metsui 2006) . كمثال أوضح (2005) Prost et al. أن 2-(E) , 3-(Z) Aexanal مثبطات نمو فعالة لبعض الممرضات النباتية . كذلك أتضح في دراسة (2006) Shiojiri et al. أن GLVs تؤثر على الممرض النباتي بوتراثيس سينيريا عن طريق خفض معدل نموه على نباتات الأرابيدوبسيس . بالإضافة إلى ذلك أتضح أن GLVs تؤثر على أداء حشرة المن . لقد وجد أن الالدهيدات ذات الستة ذرات الكربون لها تأثير مباشر على خصوبة المن وكيمياء الورقة النباتية . من جهة أخرى فإن التحولات ذات الستة ذرات الكربون لا تؤثر على حشرات المن مباشرة ولكنها تسبب تغيرات في التركيب الكيميائي للأوراق . لقد تأكدت هذه النتائج بواسطة (2001) Vancanneyl et al. اللذين استخدموا نباتات بطاطس متحولة وراثياً في HPL لدراسة تأثير GLVs على أداء المن .

بالإضافة إلى التأثيرات على الكائنات الدقيقة والمن فإن GLVs تلعب دوراً كبيراً في الإشارات نبات - نبات . الاتصال بين النباتات خلال انبعاث بعض المواد المتطايرة وصفت أولاً بواسطة الباحث (1983) Rhoades . لقد وجد هذا الباحث وغيره كلا مستقلاً عن الآخر أن النباتات المعرضة للمواد المتطايرة المنبعثة من النباتات التي أضررت ميكانيكياً أقل جذباً لآكلات النباتات الحشرية . بعد ذلك أوضح (Arimura et al. 2000) التأكيد ولأول مرة أن المواد المتطايرة من النباتات المصابة بآكلات الأوراق تقوم بالتأشير لتحفيز الجينات المرتبطة بالدفاع في النباتات المجاورة غير المصابة . من بين المواد المتطايرة التي تحفز جينات الدفاع بعض التربينويدز و GLVs . مركبات GLVs التي استخدمت ككيميائيات نقية تأكد دورها في تحفيز الجينات المرتبطة بالمقاومة في نباتات الأرابيدوبسيس . مقدرة GLVs على تحفيز إنتاج المواد المتطايرة حتى في الأوراق الجهازية تمت الإشارة إليها في البداية بواسطة (2002) Farag and Pare في الطماطم . في النهاية وفي عام ٢٠٠٥ أوضح (Ruther and Kleier ٢٠٠٥) أن GLVs عندما استخدمت مع الإيثيلين والذي ينبعث هو أيضاً بمجرد هجوم آكلات الأوراق يحفز انبعاث مخلوط المواد المتطايرة بالمقارنة بتلك التي تنطلق استجابة للتلوث الواقعي الذي تحدثه الحشرات . بينما توضح هذه الأمثلة مقدرة GLVs للعمل كإشارات في استجابة النبات الدفاعية فلا يعرف إلا القليل عن مسارات التأشير المشتركة في العملية . يبدو أن مسار تأشير الأوكتاديكانويد تلعب دوراً هاماً في هذه العملية . البيانات المتاحة عن التعبير الجيني توضح بوجه عام أن معظم الجينات التي تتأثر بواسطة GLVs تستجيب كذلك لاستخدام حامض الجسمونيك JA . لقد تحصل أخيراً على دليل قوٍ عن اشتراك الجسمونات في الاستجابة GLVs حيث أتضح أن طفرات تأشير JA أقل استجابة لمركبات GLVs .

٣-٢- التحضيرية Priming

بينما GLVs تحفز بوضوح التعبير الجيني وانطلاق المواد المتطايرة في النباتات فإن هذه الاستجابات قد تكون إما غير كاملة أو أقل ظهوراً عما هو الحال عما يحدث عند الهجوم الواقعي لآكلات النباتات أو استخدام حامض الجسمونيك JA . لذلك برز السؤال عما إذا كان أو لم يكن هذا التحفيز الضعيف لجينات الدفاع أو المستويات القليلة من المواد المتطايرة التي تتبع كافية لإحداث خفض فعال في التلف من آكلات النباتات الحشرية . للإجابة على هذا السؤال أجرى Engelberth et al. (2004) دراسة مكثفة للوقوف على تأثير معاملة GLVs على آكلات النباتات المتتابة . بادرات الذرة التي تعرضت لمركبات GLVs استجابت مع تراكم سريع وانتقالى لحمض الجسمونيك تعود ثانية لمستويات الراحة بعد ٢ - ٣ ساعات فقط . تراكم JA كان مصحوباً بانطلاق متوسط جداً من المواد المتطايرة مما يؤكد على مخرجات الدراسات السابقة . في الحزمة الثانية من التجارب تم اختبار التأثيرات الفسيولوجية للتعرض لمركبات GLVs على التحفيز المتتابع للمحفزات المشتقة من الحشرات . لقد تم تعريض النباتات لمركبات GLVs طول الليل ثم عوملت بالمحفزات في توقيت عندما وصلت لمستويات JA إلى مستويات الراحة مرة أخرى . هذه النباتات تستجيب للمعاملة بالمحفز بسرعة أكثر وبشدة أكبر بالنظر لتراكم JA وانطلاق المواد المتطايرة بالمقارنة بالنباتات غير المعرضة ولكن بالنباتات المقارنة المعاملة . من المثير للاهتمام أن المعاملة المسبقة بمركبات GLVs أثرت بشكل متخصص على تراكم JA المحفز ولم يكن هناك تأثير على النواحي الأخرى لاستجابات الجروح . لقد كان ذلك أول تناول للتأثير التحضيرى لمركبات GLVs ضد آكلات النباتات الحشرية وقد حجبت الرؤية الجديدة عن الفعل المؤثر لهذه المركبات في مجتمع النبات . التحضيرية تعنى العملية التي فيها تسرع أو تحفز الاستجابة لبعض التحديات بواسطة تنشيط مسبق وقد تأكدت مع التداخلات بين النبات والممرض (Prime -A- Plant Rroup et al. (2006 في مجال التداخلات بين النبات والممرض فإن GLVs يبدو أنها تعمل كوسائل تحضيرية بواسطة تجهيز النباتات لمجابهة آكلات النباتات .

منذ الاكتشاف الأول تم تأكيد التأثير التحضيرى لمركبات GLVs في البيئات الأكثر واقعية بواسطة Kessler et al. (2006) . باستخدام السلسلة الدقيقة الغنية في جينات الدخان المرتبطة بآكلات النبات الحشرية وجدت استجابات نسخ في نباتات الدخان البرية النامية في منطقة المريمية المجزوة ولم تحدث زيادة في الدفاعات المباشرة مثل النيكوتين وإنتاج مثبط البروتينيز . هذا ولو أنه عندما بدأت يرقات حشرة M.sexata في التغذية على هذه النباتات التحضيرية حدث إنتاج محفز أسرع لمثبط تربسين البروتينيز . هذه الاستجابة التحضيرية لنباتات الدخان البري التي تعرضت للممرية المجزوة أدت إلى ضرر قليل لآكلات النباتات وكذلك معدل موت أعلى ليرقات ماندوكا الصغيرة . من بين المركبات

المتطايرة المسؤولة عن هذا التأثير التحضيرى مركب hexenal-2 (E) ولكن تتضمن المركبات ميثاكرولين والمثيل جسمونات .

فى دراسة حديثة للباحث (Ton et al. 2007) تم دراسة تأثير التحضير بواسطة المواد المتطايرة المحفزة على الدفاعات المباشرة وغير المباشرة فى الذرة على المستوى الجزيئى والكيميائى ومستوى السلوك . باستخدام اختبارات الغربلة بالتهجين المتباين تمكن الباحثون من تعريف عشرة جينات مرتبطة بالدفاع والتي تم تحضيرها بتغذية اليرقات والجرح الميكانيكى واستخدام قىء اليرقات وحمض الجسمونيك JA . التعريض للمواد المتطايرة من النباتات المصابة بأكلات النباتات لم تنشط هذه الجينات مباشرة ولكنها أدت إلى تحضير تحت حزمة منها للتحفيز القوى و / أو المبكر بمجرد تحضير الدفاع تبعاً مما يؤدي إلى خفض الضرر الذى تحدثه أكلات النباتات وتطور اليرقات وزيادة جذب الأعداء الطبيعية لليرقات والدبور المتطفل .

لقد تناولت معظم الدراسات دور إشارات المواد المتطايرة بما فيها GLVs فى الاتصال داخل النبات وأتضح أن نفس المواد المتطايرة تعمل كذلك كإشارات فيما بين النباتات (Karban et al. 2006) . لقد درس هؤلاء الباحث دور المواد المتطايرة فى المقاومة المحفزة بين أفراد نباتات المرمرية (*Artemisia tridentata*) وكذلك بين الفروع فى النبات الواحد . نبات المرمرية على غرار العديد من النباتات الصحراوية الأخرى عبارة عن زراعات مقطعية بما لا يسمح بالتبادل الحر للمادة بما فيها مركبات التأشير خلال الاتصالات أو الارتباطات الوعائية ومن ثم التحفيز المنسق للمقاومة ضد أكلات النباتات . بدلاً من ذلك فإن المركبات المتطايرة تستخدم للتغلب على هذه العقبة وأخذ دور الإشارة الجهازية لتجهيز الأجزاء الأخرى من النبات لتحقيق الدفاع الأفضل ضد أكلات النباتات الحشرية . دور مركبات GLVs فى هذه العملية غير واضح حيث لم تختبر كفاءة المواد المتطايرة كل على حدة . تحضير الدفاعات غير المباشرة خلال المواد المتطايرة سجلت مع إنتاج الرحيق فى نباتات فول اللبنة من الأزهار . إفرازات رحيق الأزهار يجذب مفصليات الأرجل آكلة اللحوم مما يسبب زيادة فى ضغط المفترس على أكلات النباتات المهاجمة . فى دراسة حقلية ثم تعريض نباتات فول اللبنة لمخاليط صناعية من المواد المتطايرة المخلقة . لقد وجد أن هذه النباتات التى تم تحضيرها أولاً بواسطة التعرض للمادة المتطايرة تنتج رحيق أزهار أكثر ثلاث مرات استجابة للضرر الميكانيكى بالمقارنة بالنباتات التى لم تحضر أولاً . لقد أشار الباحثون أن وظيفة إشارات المواد المتطايرة المحفزة بأكلات النباتات ليست محدودة على الإشارات داخل النبات ولكنها تمتد لدور مثل الإشارة الجهازية داخل النبات (Heil and Bueno 2007) كما وصف فى البداية بواسطة (Karban et al. 2006) .

بسبب استخدام مخاليط معقدة من المواد المتطايرة في الدراسات التي أجريت بواسطة العديد من البحوث مثل (Ton et al. (2007), Karben et al. (2006) والتي كانت تحتوي على GLVs بين المركبات المتطايرة التقليدية الأخرى فإنه يجب توضيح ما إذا كان المخلوط كله أو المركبات الفردية مسئولة عن التأثير التحضيرى الأولى . لا يمكن استبعاد أن المكونات الأخرى لمخلوط المواد المتطايرة مثل بعض التربينات يمكن أن تعمل كإشارات في الاتصالات داخل النبات .

كما ذكر سابقاً فإنه يبدو أن GLVs تنشط مسارات الإشارات المرتبطة بحمض الجسمونيك وإنتاج هذا الحامض المحفز بمركبات GLVs كما ظهر في بادرات الذرة . لا يعرف الكثير عن مسار تأثير GLVs في أنواع النباتات الأخرى . هذا ولو أن تنشيط جينات الدفاع التي تعتمد على JA التقليدي تعضد دور مسارات التأثير المرتبطة بحمض الجسمونيك في عملية التحضير الأولية التي تبدأ بواسطة GLVs . فى الذرة خلص البحوث (Engelberth et al. (2007 أن الجينات المسئولة عن التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك تحفز بدرجة كبيرة مما أدى إلى الاقتراح بأن مسار تأثير الأوكتاديكانويك تلعب أدوراً هامة في العمليات المحفزة بمركبات GLVs .

٤ - مسار تأثير أوكتاديكانويد

عندما تهاجم آكلات النبات الحشرية عوائلها النباتية فإن معظم التأثيرات المضادة تؤثر أو تشفر خلال مسار الأوكتاديكانويد مع حمض الجسمونيك JA ومقترنات - JA كإشارات كبرى داخل النبات . شلال إشارات الأوكتاديكانويد يبدأ بواسطة تلف النسيج مؤدياً إلى تكوين حامض ١٢- أوكسو فيتودينويك أسيد (OPDA) من الأحماض الدهنية عديدة عدم التشبع فى البلاستيدات . الخطوات النهائية فى المسار تحدث فى البيروكسيسومات بواسطة إنزيم ١٢- أوكسو - فيتودانيوات - ١٠ ، ١١ - ريدكتاز (OPR) متبوعاً بثلاثة دورات من الأكسدة بيتا مؤدية إلى تكوين حمض الجسمونيك (Scdaller et al. 2004) .

ولو أن الكثير من الدراسات الأولى عن تأثير الأوكتاديكانويد ركزت على حمض الجسمونيك JA خاصة فيما يتعلق بدوره فى تنشيط جينات الدفاع إلا أنه فى الوقت الحالى أصبح واضحاً أن مسار المواد الوسيطة مثل OPDA و مقترنات - JA تحدث نشاطها المتميز فى النبات . كمثال فإنه أتضح أن OPDA تحفز المحاليل الملفوفة فى نبات *Bryonia dioica* بدرجة أكثر فاعلية عما هو الحال مع حمض JA (Stelmach et al. 1998) . كذلك فإن OPDA التى تحفز التغيرات فى التعبير الجينى تختلف بشكل واضح عن تلك التى تحدث مع JA . الدليل المباشر عن الأنشطة المتميزة لمركبات OPDA و JA أتى من توصيف الطفرة Opr3 لنبات الأرابيدوبسيس الذى ينقص فى اختزال

OPDA ومن ثم لا يصبح قادراً على تكوين JA . الطفرة تعقم الذكور مما يوضح أن JA مطلوب بشكل ضروري لتطور الجهاز التناسلي في الذكور . على العكس فإن استجابات الدفاع التي تعتمد على أوكتاديكانويدز لا تتلف في الطفرة Opr3 مما يوضح أن OPDA يمكن أن يحل محل JA في تحفيز تعبير الجين . على غرار JA فإن OPDA ينظم بشكل كبير عند موقع الضرر الميكانيكي ويبدو أن وظيفته لا تعمل كبادئ لحمض الجسمونيك JA ولكنها تلعب دوراً جزيئاً ومستقل في الاستجابة الفورية للجروح .

في السنوات الحديثة أصبح من الواضح أن الجرح الميكانيكي قد لا يحاكي جيداً ودائماً ما يحدث مع آكلات النباتات . بينما المكون الطبيعي للضرر الذي تحدثه آكلات النباتات وجدت اختلافات كبيرة تحدث عندما تضرر النباتات ميكانيكياً بالمقارنة بالتلف الفعلي الذي يحدث بواسطة آكلات الأوراق . هذه الاختلافات ترجع إلى المحفزات مثل الفوليسيتين (وغيرها من أميدات الحمض الدهني) والأنسيثينات والكاليفيرينات وهي مكونات ضرورية لقيء الحشرات المقابلة . لقد وصفت هذه المركبات أولاً عندما أظهرت تحليل VOC اختلافات كبيرة بين النباتات التي حدث لها ضرر ميكانيكي فقط وتلك النباتات التي استخدم عليها بصاق اليرقات على موضع الجرح . لقد لوحظت اختلافات نوعية وكمية وقد ترجع إلى عوامل في سائل القيء . باستخدام المحفزات المنقاة أو المخلفة أوضح (Schmelz et al. 2005) أن هذه المحفزات أثرت بشكل كبير على مستويات حمض الجسمونيك وانطلاق المواد المتطايرة VOC . لقد أوضح Engellerth (2007) et al. أنه في أوراق الذرة لم تزداد مستويات JA الموضعية أو OPDA فقط بعد استخدام المحفز عند المقارنة بما يحدث مع الجرح الميكانيكي ولكن JA البعيد عن موضع استخدام المحفز كذلك حدث له تنظيم فائق دون تأخير محسوس . من المثير للاهتمام أنه بينما يحدث تخفيض كبير موضعي للـ OPDA فإنه لم يتم الكشف عن زيادات في OPDA في الأجزاء البعيدة من أوراق الذرة . لقد أدى ذلك إلى الاقتراح بأن التخليق الحيوي لمركبات OPDA , JA تنظم بشكل متباين وأظهرت النتائج الأولية أن OPDA الحرة لا تشارك في التخليق الحيوي لحمض الجسمونيك في الاستجابة للجرح والتي تعضد دور OPDA كمركب إشاري مستقل . نشاط GLVs تجاه تحفيز حمض JA أضاف إلى قائمة المنشطات التي تتداخل مع مسار تأشير الأوكتاديكانويد . ليس التعرض لمركبات GLVs فقط هي التي تحدث تراكم JA في بساتين الذرة ولكنها تجهزها كذلك ضد آكلات النبات الحشرية التي يعبر عنها في الإنتاج الزائد لحمض الجسمونيك وانفراد VOC عندما تحفز مع المحفزات الحشرية . من جهة أخرى لوحظ عدم حدوث تأثير للتحضير بواسطة GLVs على تراكم JA المحفز بالجرح ومستويات JA لم تزداد بعد ذلك بواسطة المعاملة الثانية لمركبات GLVs مما يوضح بعض التخصصية للإشارة GLVs . بالإضافة إلى ذلك فإن حقيقة أن مستويات JA المتزايدة

المحفزة بواسطة GLV لم تكن مصاحبة بزيادة في OPDA مما يشير إلى تشابه قوى لما لوحظ من تراكم JA في الأجزاء البعيدة من الورقة بعد استخدام المحفز الحشري مما أدى إلى الاقتراح بوجود ارتباط بين هاتين الحادثتين . لقد اقترح كذلك أن في الدورة ذات التنظيم العالي أو في البادئ المقترن الموجودين في المسار مما يؤدي إلى التخليق الحيوي لحمض الجسمونيك مما لا يسمح لأي وسيط هو في المسار بالكشف عنه . لذلك فإن جميع التجارب التي أجريت للكشف عن OPDA أو JA سواء في صورة ليبيدات أو في صورة OPDA أو مقترنات الحمض الأميني لحامض JA فشلت في الحصول على دليل عن هذا النوع من البادئات .

إلى جانب الزيادة المحفزة لكل من AOS , AOC لمستويات النسخ لهما فإن المركبات GLVs يبدو أنها تعمل كذلك كمنظم كبير لتحفيز جينات ORP في الذرة . كذلك فإن OPR يزداد نشاطها بشكل كبير بعد ١٥ ساعة من التعرض لمركبات GLVs في وقت عندما يكون التأثير التحضيري واضحاً . هذه الزيادة في النشاط قد ترجع إلى النشاط المعاوذ العالي عندما يكون هناك تحدى مع المحفزات المشتقة من الحشرات مما يؤدي إلى زيادة وارتفاع مستويات JA عند المقارنة بتحدى مساوي في النبات غير المعرضة GLVs . بناء على التعريف المتتابع مع At OPR3 , Le OPR3 فإن Zu OPR8 فقط يبدو أنه يميل إلى المشاركة في التخليق الحيوي لحمض الجسمونيك JA . هذا ولو أن الوظائف الفعلية والتتابعات الفسيولوجية لتحفيز OPR المتميز في الذرة بواسطة GLVs وغيره من المنشطات مثل الضرر الذي تحدثه آكلات النبات الحشرية أو الجروح الميكانيكية لم تتأكد بعد وأن التوصيف البيوكيميائي لبروتينات OPR على حدة في الذرة مطلوبة للسماح للوضع الصحيح لمسار الإنزيم المقابل الخاص .

يبدو أن تنشيط مسار أوكتاديكانويد يمثل حادثة التأثير الكبرى في النباتات بالنظر لآكلات النبات الحشرية . الجروح والمحفزات المشتقة من الحشرات و GLVs تؤثر على هذا المسار بطريق وأسلوب متقدم جداً حيث أن كل منه يحفز استجابة مختلفة بشكل متميز . هذه الاختلافات في تنظيم هذا المسار يبدو أنها ذات أهمية محددة ليس لفهمنا كيف أن النباتات تتوافق مع بيئتها فقط ولكن بالنظر إلى تطور المستقبل وكذلك استراتيجيات الإدارة المستنيرة للآفات ذات المردودات البيئية .

٥ - اتجاهات المستقبل

هناك العديد من الأسئلة المطلوبة لزيادة فهمنا عن الميكانيكيات التي بواسطتها تدافع النباتات عن نفسها ضد هجوم آكلات النباتات . المعلومات التي اكتسبت من البحوث على التداخلات الأساسية البيوكيميائية والبيئية بين النبات / الحشرة قد تمكن من استخدام هذه

الميكانيكيات لزيادة كفاءة النباتات في الدفاع ضد الآفات الحشرية ومن ثم خلق طرق مؤازرة لإدارة السيطرة على الآفات .

ما إذا كانت الأنواع المختلفة للمحفزات المشتقة من الحشرات فعالة عبر مدى عريض من أنواع النباتات محل تساؤل لم يتم الإجابة عليه بعد . هل بعض أنواع المحفزات نشطة على بعض أنواع النباتات فقط وهل هذه ترتبط بأنواع النباتات والتي تقوم آكلات النباتات بإنتاج هذه المحفزات للتغذية عليها ؟ حتى الآن لا يوجد اتجاه واضح عن هذا النشاط . بالتأكيد توجد نباتات مثل اللوبيا يبدو أنها لا تتفاعل مع محفزات FAC . كذلك فإن النشاط النسبي لمحفزات FAC تم تحديده على بادرات الذرة ولم يجرى على أنواع نباتية أخرى . هل الثوليبستين أكثر نشاطاً عن N - لينولينويل - L - جلوتامين والجلوتامات على جميع أنواع النباتات التي تتفاعل مع هذه المركبات ؟ أو هل النشاط النسبي لمركبات FAC's المختلفة تختلف عبر السلسلة العريضة من الأنواع النباتية ؟ . على نفس المنوال هل النشاط النسبي للكاليفيرينات هي نفسها عبر جميع الأنواع النباتية التي تستجيب للمحفزات التي تنتج بواسطة نطاطات الأوراق ؟ . الإجابة على هذه الأسئلة قد تحجب بعض الضوء على السؤال الخاص بالميكانيكية التي بواسطتها تقوم المحفزات بتحفيز دفاعات النباتات . في هذه الميكانيكية هل هي نفسها مع المحفزات التي تنتج من قبل جميع آكلات الأوراق أو هل هي تختلف مع الأنواع المختلفة من المحفزات .

نفس الأسئلة عن التحضيرية . هل هناك ظاهرة عامة أو هل هي مقيدة لأنواع قليلة ؟ ما هي فاعليته وهل يلعب دوراً مؤثراً في حماية النباتات من هجوم آكلات الأوراق أو تقلل من ضرر النبات في النظم البيئية الطبيعية ؟ هل توجد جزيئات تحضيرية أخرى بالإضافة لمركبات GLVs ؟ هل الفاعلية النسبية لجزيئات GLVs المختلفة هي نفسها في جميع النباتات أو هل تتغير في أنواع النباتات المختلفة ؟ ما هي الميكانيكية التي تحدث بها التحضيرية ؟ هل تستطيع تطوير طريقة لاستخدام التحضيرية لحماية المحاصيل ضد هجوم الآفات الحشرية ؟

في النهاية يوجد سؤال : لماذا تقوم آكلات النباتات الحشرية بعمل المحفزات وما هو الدور الذي تلعبه في فسيولوجيا أكل النبات الحشرى وفي التمثيل أو الدفاع . حيث أن FACs اكتشفت في مدى عريض من أنواع حشرات حرشفية الأجنحة وحديثاً اكتشفت في حشرات مستقيمة وذات الجناحين يبدو من الممكن أن تقوم بلعب دور محدد في هذه الحشرات مثل عمليات الهضم والتمثيل . لقد تم التخطيط للعديد من التجارب لتأكيد هذا الدور بما فيها الدراسات المعلمة إشعاعياً لتحدي عمليات التمثيل التي تشترك فيها محفزات FAC . بالإضافة إلى ذلك فإن الإنزيمات الموجودة في معدة يرقات حرشفية الأجنحة التي تخلق وتمثل هذه المركبات FACs حيث تم تنقيتها وكلونة الجينات . تجارب تقطيع الجين قد تقدم معلومات للوقوف على أهمية هذه الجزيئات في الهضم وعمليات التمثيل الأخرى .

References

- Alom HT , Brennan MM, Tumlinson JH (2003) Differential activity and degradation of plant volatile elicitors present in the regurgitant of tobacco hornworm (*Manduca sexta*) larvae . J Chem Ecol 29 : 1357 – 1372
- Baldwin IT , Schultz JC (1983) Rapid changes in tree leaf chemistry induced by damage – evidence for communication between plants . Science 221 : 227 – 279
- Curtius T , Franzen H (1911) Aldehyde aus grünen pflanzenteilen Chem Zentr II : 1142 – 1143
- De Moraes CM , Lewis WJ , Pare PW , Alborn HT , Tumlinson JH (1998) Herbivore infested plants selectively attract parasitoids . Nature 393 : 570 – 573
- Eichenseer H , Mathews MC , Bi JL , Murphy JB , Felton GW (1999) Salivary glucose oxidase : multifunctional roles for *Helicoverpa zea* ? Arch Insect Biochem physiol 42 : 99 – 109
- Farag MA , Pare PW (2002) C6 – green leaf volatiles trigger local and systemic VOC emissions in tomato , Phytochemistry 61 : 545 – 554
- Heil M, Bueno CS (2007) Within – plant signaling by volatiles leads to induction and priming of an indirect plant defense in nature . proc Natl Acad Sci USA 104 : 5467 – 5472
- Kishimoto K, Matsui K, Ozawa R , Takabayashi J (2006) ETR1 – JAR1 – and PAD2 – dependent signaling pathways are involved in C6 – aldehyde – induced defense responses of *Arabidopsis* . plant Sci 171 : 415 – 423
- Lait CG , Alborn HT , Teal TEA , Tumlinson JH (2003) Rapid biosynthesis of N- linolenoyl – L – glutamine , an elicitor of plant volatiles , by membrane associated enzyme (S) in *Manduca sexta* . proc Nat Acad Sci USA 100 : 7027 – 7032
- Mori N , Yoshinaga N, Sawada Y , Fukui M, Shimoda M, Fujisaki K, Nishida R , Kuwahara Y (2003) Identification of volicitin – related compounds from the regurgitant of lepidopteran caterpillars , Biosci Biotech Biochem 67 : 1168 – 1171
- Ortego F , Evans PH , Bowers WS (1997) Enteric and plant – derived deterrents in regurgitate of American bird grasshopper , *Schistocerca americana* . J Chem Ecol 23 : 1941 – 1950

- Pare PW , Alborn HT , Tumlinson JH (1998) Concerted biosynthesis of an insect elicitor of plant volatiles , *proc Natl Acad Sci USA* 95 : 13971 – 13975
- Reymond P, Weber H, Damond M, Farmer EE (2000) Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis* , *plant cell* 12 : 707 – 719
- Sword GA (2001) Tasty on the outside , but toxic in the middle ; grasshopper regurgitation and host plant – mediated toxicity to a vertebrate predator . *Oecologia* 128 : 416 – 421
- Taki N , Sasaki – Sedimoto Y , Obayashi T , Kikuta A , Kobayashi K, Ainai T, Yagi K, Sakurai N, Suzuki H , Masuda T , Takamiya K, Shibata D, Kobayashi Y , Ohta H (2005) 12 – Oxophytodienoic acid triggers expression of a distinct set of genes and plays a role in wound-induced gene expression in *Arabidopsis* , *plant physiol* 139 : 1268 – 1283
- Wei JN , Zhu JW , Kang L (2006) Volatiles released from bean plants in response to agromyzid flies , *planta* 224 : 279 – 287
- Yoshinaga N , Sawada Y , Nishida R , Kuwahara Y , Mori N (2003) Specific incorporation of L – glutamine into volicitin the regurgitant of *Spodoptera litura* , *Biosci Biotechnol Biochem* 67 : 2655 - 2657

ثالثاً : الأدوار الايكولوجية لمركبات التربين المتطايرة من الأجزاء الخضرية

Ecological Roles of Vegetative Terpene Volatiles Jorg Degenhardt

بسبب العدد الضخم والتنوع التركيبى الكبير تسود التربينات معظم مَخالِيط المواد المتطايرة فى النباتات . لقد اتضح أن التربينات تعول التداخلات بين النباتات والعديد من الكائنات الحية بما فيها مفصليات الأرجل والنيماتودا وغيرها من النباتات . فى الغالب فإن هذه التداخلات تبنى على التربينات الأحادية والعديدة المتطايرة والتي تنطلق من النبات من هجوم آكلات الأوراق . التربينات تجذب الأعداء الطبيعية لآكلات الأوراق التى تهاجم آكلات النباتات ومن ثم تخفض من الضرر على النبات . يطلق على هذا التداخل " الدفاع غير المباشر " وهو فى الغالب يفيد النبات ولكن الكائنات الأخرى مثل النباتات المتطفلة والحشرات تستطيع استخدام الإشارات المتطايرة لمميزاتها . بالرغم من العدد القليل نسبياً من التداخلات التى تعول التربينات المتطايرة حيث تم تعريفها فى الوقت الحالى وقد اكتشف العديد منها مع تقدم طرق جمع المواد المتطورة والطرق الجزيئية .

J. Degenhardt

Department of Biochemistry , Max Plnck Insitute for Chemical Ecology , D – 07745 Jena , Germany

e-mail : degenhardt@ice.mpg.de

A. Schaller (ed.), Induced plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١- مقدمة

التربينات تكون المجموعة الأكبر من المركبات المتطايرة فيما بين المنتجات الطبيعية للنباتات . العديد من التربينات ٣٠٠٠٠ خاصة التربينات الأحادية والعديدة والتربينات غير المنتظمة ذات الوزن الجزيئى المنخفض لها ضغوط بخارية عالية (Connoly and Hill 1991) . الضغط البخارى العالى يؤدى إلى انبعاث هذه المركبات من النبات إلى البيئة . ولو أن تطاير التربين من الأزهار عرف منذ سنوات عديدة فإن هذه المركبات تنبعث كذلك من الأنسجة الخضرية للنباتات . التحليل التفصيلى لنظم الانبعاث فى النباتات أظهر أن معظم الأنسجة تنتج مخالِيط خاصة من التربينات كما هو الحال مع نباتات الارابيدوبسيس والذرة . بعض من هذه التربينات تنبعث من أعضاء خاصة لتخزين

التربينات وكمثال الأشواك الغدية للنعناع وقنوات الراتنج فى أشجار البلوط ولكن العديد من المواد المتطايرة لا تنطلق من مواقع التخزين ذات التركيب التشريحي الخاص . منذ ما لا يقل عن حقتان زمنيتان مضت أتضح أن المواد المتطايرة المنبعثة من النباتات بعد الضرر الذى تحدثه آكلات الأوراق تستطيع جذب الأعداء الطبيعية لآكلات النباتات (Dicke et al. 1990 تحت الظروف البيئية المناسبة فإن جذب الأعداء الطبيعية تستطيع تحجيم الضرر من آكلات النباتات على النبات المصاب فى هذا المقام نركز على إشارات التربين المتطاير من الأنسجة النباتية الخضراء ودورها فى دفاع النبات ضد آكلات الأوراق .

٢- التربينات كإشارات نباتية متطايرة

على خلاف الإشارات المشتقة من الحمض الدهنى والمواد المتطايرة العضوية فإن التربينات تنبعث بوجه عام فى المخاليط المعقدة مع تنوع تركيبى عريض بين المركبات . المسئول عن معظم التنوع فى التربينات تتمثل فى الإنزيمات المتعددة التى تعمل على التربينات العديدة وهى الإنزيمات الفاتحة للتخليق الحيوى للتربينات . إنزيمات التربين سينسيزيس تستطيع إنتاج مخاليط تحتوى على ما يزيد عن ٥٠ من المركبات من وسيط واحد وتكون مخاليط بنسب معروفة نسبياً من المنتجات (Steele et al. 1988) . بالنظر للكائنات الأخرى فإن هذه المخاليط تقدم إشارة أكثر تخصصاً عن الإشارات التى تكون التربينات منفردة .

بينما تنتج تركيزات منخفضة من التربينات المتطايرة فى معظم بل كل نسيج نباتى فإن التركيزات الأعلى من التربينات من الأنسجة الخضرية تنتج استجابة للإشارات البيئية . انطلاق التربين يزداد استجابة للتلف والتلامس مع محفزات آكلات النباتات والعوامل اللا حيوية مثل الجروح والحالة الغذائية للنبات وكذلك درجة الحرارة والضوء . على عكس العديد من مركبات مسار اليبوكسينجينيز فإن التربينات تنطلق عادة بعد التخليق الجديد متضمنة نسخ للجين وخلال وقت يتراوح من ساعة وحتى ساعتان بعد التحفيز (Turlings et al. 1998) .

بالرغم من العدد المهور من التربينات التى تنطلق بواسطة النباتات فإن عدد قليل نسبياً من التربينات تم تعريفها كإشارات بين الكائنات حتى الآن . فى هذا المقام سوف نتناول بعض من هذه التداخلات التى تتضمن التربينات المتطايرة كما ستناقش المشاكل المرتبطة بدراسة التداخلات التى تعول التربين .

٢-١- التداخلات ثلاثية التغذية للنباتات مع آكلات الأوراق والأعداء الطبيعية لها

منذ ما يقرب من عقدين من الزمان لاحظ العلماء والباحثون فى كل من هولندا والولايات المتحدة الأمريكية لأول مرة أن الضرر الذى تحدثه آكلات الأوراق على بعض

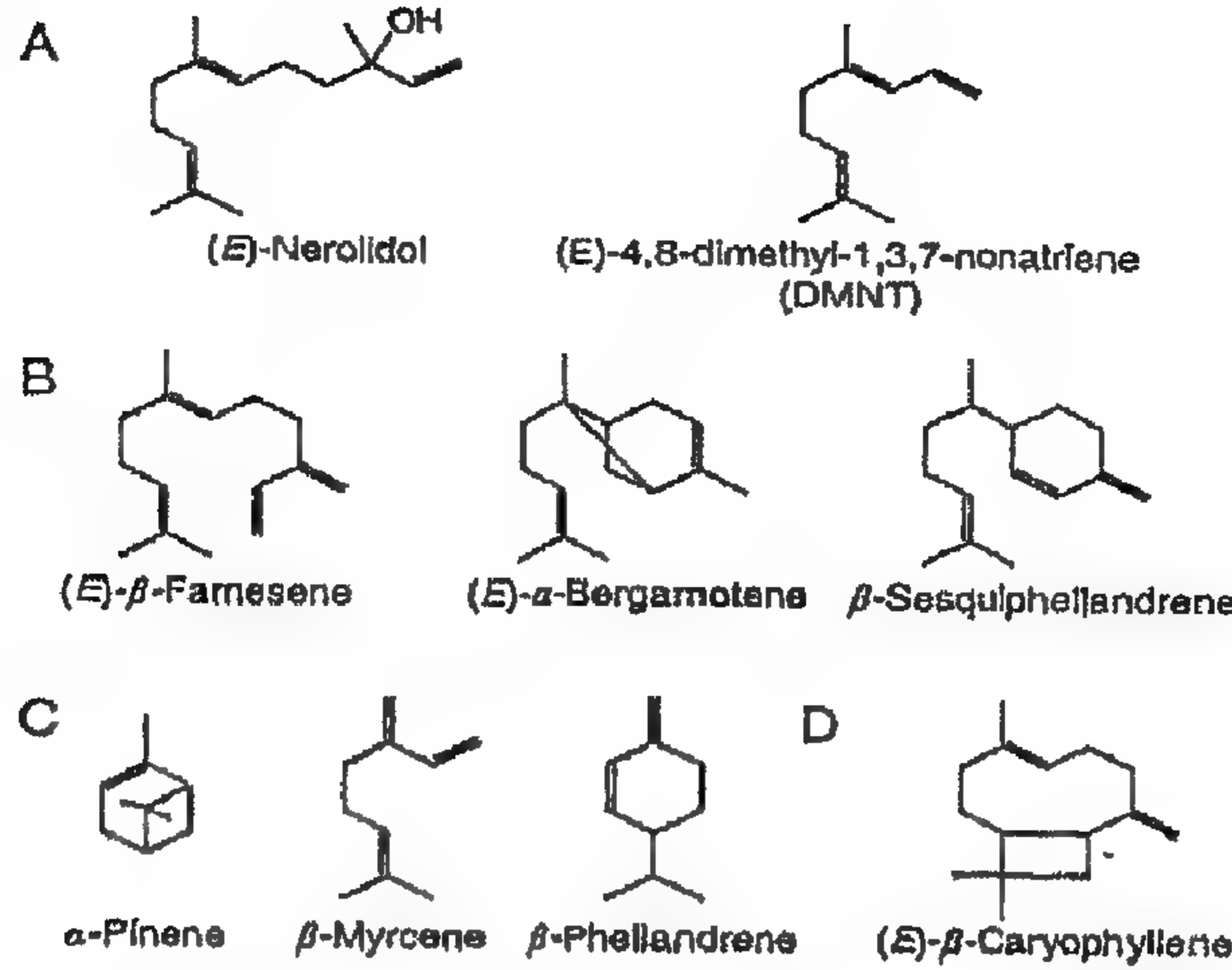
النباتات يحفز انطلاق المركبات العضوية المتطايرة التي تجذب الأعداء الطبيعية لآكلات الأوراق (Dicke et al . 1990) . لقد ذكرت هذه الظاهرة في أكثر من ١٥ نوع نباتي مختلف بعد التغذية بواسطة تنوع من مفصليات الأرجل آكلة النباتات وهذا ما أطلق عليه الدفاع غير المباشر . الأعداء الطبيعية لآكلات الأوراق التي تستجيب للمواد المتطايرة من النباتات التالفة من الإصابة بالحشرات بما فيها مفصليات الأرجل آكلة اللحوم وكل المفترسات والمتطفلات . انجذاب الأعداء الطبيعية لآكلات الأوراق يفيد النبات عن طريق خفض مجموع الحشرة وزيادة الكفاءة التناسلية ولو أن هذه الميزة لم تظهر في جميع الحالات .

لقد درس بالتفصيل انجذاب الأكاروس المفترس فيتوسيلوس بيرسيميليسين إلى نباتات فول اللبنة المصابة بالعنكبوت الأحمر تترانيكس يورتيكا . لقد استخدمت الاختبارات الشمية لانجذاب مركبات فردية من خليط المعقد المتطاير وأتضح أن الأكاروس المفترس لا ينجذب فقط للمركب العضوي مثيل ساليسيللات ولكنه ينجذب أيضاً إلى كحول فيوليدول . الأرابيدوبسيس المهندسة وراثياً تعبر بشكل مكثف عن إنزيم نيروليدول سينسيز من الفراولة حيث استخدم كمصدر متطاير في تجارب جهاز الشم أولفاكتورمين Olfactometer مع الأكاروس المفترس *P. pirsimilis* . النباتات التي تطلق نيروليدول التي تحصل عليها بالهندسة الوراثية أكثر جذباً للمفترس من النباتات البرية غير المضارة . بالإضافة إلى الجذب الملازم للمركبات المتطايرة النباتية فإن الأكاروسات المفترسة عندها مقدرة كذلك للارتباط بالرائحة مع وجود العائل . التربين المتجانس (3E , 7E) - ١٢,٨,٤ - ترايمثيل - ٤ - ٣ - ٧ - ١١ - تراديكاتترايين وهو تربين أوليفين غير منتظم به ١٦ ذرة كربون ينطلق من فول اللبنة استجابة للتغذية بواسطة الأكاروس *Turticac* ولا يحدث ذلك مع الكائن غير العائل الدودة القارضة (الشكل ١٠-٦- A) . بعد سلاسل من الخبرات في غياب ووجود الفريسة فإن الأكاروس المفترس يستخدم التربين المتجانس كدليل على وجود الضحية (De Boer et al. 2004) . المقدرة على تعلم المزاولة توجه الأكاروسات المفترسة للوصول إلى ضحاياها تحت الظروف الطبيعية في البيئة المعقدة . هذا لا يساعد فقط المفترس للتعرف على النباتات المصابة بالفريسة ولكنه يسمح كذلك بالتكيف عندما تنتقل الفريسة بين العوائل المختلفة خلال الموسم (Drukker et al . 2000) .

نباتات الذرة المضارة بيرقات حرشفية الأجنحة مثل دودة ورق القطن تبعث أو تطلق مخلوط معقد من المواد المتطايرة يسود فيها التربينات الأحادية والعديدة (Turlings et al. 1991) . هذه المواد المتطايرة تجذب إناث الدبور المتطفل *Cotesia marginiventris* التي تستخدم يرقات حرشفية الأجنحة كعوائل . التطفل قد يفيد نباتات الذرة تحت الظروف الملائمة حيث أن اليرقات المتطفل عليها تتغذى أقل ولا تنتج ذرية .

حيث أن أكل النبات يحفز المواد المتطايرة في الذرة والتي وجد أنها تتكون من خليط معقد من المركبات ولكن من الصعوبة بمكان معرفة أى من هذه المركبات يكون جاذباً للدبور المتطفل . التربينات المتعددة الكبرى لنبات الذرة المحفزة بأكل النباتات ينتج بواسطة إنزيم تربين سينسيز TPS10 والذي يعبر عنه بشدة بعد هجوم حشرات حرشفية الأجنحة . TPS10 تكون *bergemotene* -#-(E) , *farnesene* - B - (E) وغيرها إيدروكربونات عديدة التربينات المحفزة بأكلات النباتات من الوسيط فارنيسيل دايفوسفات (الشكل ١٠-٦ و B , Schnee et al. 2006) . التعبير الفائق لإنزيم TPS10 فى نباتات الأرابيدوبسيس يؤدي إلى نباتات تطلق كميات عالية من منتجات YPS10 عديدة التربينات متطابقة لتلك التي تنطلق بواسطة نباتات الذرة . استخدام نباتات الأرابيدوبسيس المهندسة وراثياً كمصادر للرائحة فى تجارب التقييم الحيوى للشم أظهر أن إناث شبيهة الطفيل *C.marginiventris* تتعلم استخدام TPS10 عديدة التربينات لإيجاد عوائلها من حشرات حرشفية الأجنحة بعد التعرض المسبق لهذه المواد المتطايرة فى ارتباط مع العوائل . هذا التحليل المبني على الجين لمخلوط المواد المتطايرة المحفز بأكلات النباتات أظهرت أن جين منفرد مثل TPS 10 يكون كافياً لإعالة الدفاع غير المباشر لنباتات الذرة ضد هجوم أكلات الأوراق . بالإضافة إلى ذلك فإن تعلم الملازمة يستطيع إحداث تكيف فى أشباه الطفيليات على التغيرات فى مخلوط المواد المتطايرة المحفزة بأكلات النباتات بواسطة الأنواع النباتية وعمر ونسيج النبات والظروف اللا حيوية (Takabeyashi et al. 1994) هذا ولو أن إناث المفترس ينجذب كذلك إلى المخلوط الكامل من المواد المتطايرة فى الذرة دون ملازمة مسبقة مما يوضح أن المخلوط يحتوى على مركبات جاذبة إضافية والتي تحفز الاستجابة . التحليل عن مكونات هذه المواد المتطايرة لم يتمكن من تعريف هذه المركبات بعد . خليط الاستجابات الأصلية والتي تم تعلمها قد يسمح لهذا الدبور العام المتطفل للوصول إلى مدى عريض من العوائل على الأنواع النباتية المختلفة فى الطبيعة وفى البيئة المعقدة . من المثير للدهشة انبعاث المواد المتطايرة استجابة للضرر من أكلات النباتات حيث أنه لا يفيد نباتات الذرة فقط حيث أن يرقات حشرات حرشفية الأجنحة *S.frugiperda* تستخدم هذه المواد المتطايرة كإشارة لإيجاد النباتات التي تتغذى عليها

(Carroll et al. 2006) . مطلوب إجراء دراسات إضافية لتحديد ما إذا كانت فائدة إشارة المواد المتطايرة تتفوق على مميزاتها تحت ظروف بيئية خاصة .



Structures of volatile plant terpenes involved in interactions with other organisms. (A) (E)-nerolidol and (E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene (DMNT) are used by the predatory mite *P. persimilis* to locate spider mites. (B) (E)-β-farnesene, (E)-α-bergamotene and (E)-β-sesquiphellandrene attract parasitic wasps to maize damaged by lepidopteran larvae. (C) α-pinene, β-myrcene and β-phellandrene attract dodder (*C. peniagona*) to its host plant. (D) (E)-β-Caryophyllene guides entomopathogenic nematodes to maize roots damaged by *D. v. virgifera*.

شكل (١٠-٦) : تراكيب التربينات النباتية المتطايرة التي تشترك في التداخلات مع الكائنات الأخرى . (A) تستخدم بواسطة الأكاروس المفترس *P. persimilis* للوصول إلى الأكاروسات الضارة . (B) تجذب الدبابير المتطفلة لنباتات الذرة التي تلفت بواسطة يرقات الدودة القارضة . (C) تجذب العليق إلى النبات العائل . (D) توجه النيماتودا الممرضة للحشرات إلى جذور الذرة المصابة بواسطة *D.V. virgifera* .

لقد درست وظيفة التربينات كإشارات دفاعية تحت الظروف الحقلية في أنواع الدخان البرية . لقد تمت محاكاة انطلاق التربينات بواسطة استخدام عجينة اللانولين التي تبعث تركيزات فسيولوجية من المونوتربين لينالول وعديدة التربينات (E) - # - بروجاموتين (Kessler and Baldwin 2001) . انبعاث اللينالول الخارجي ينقص من معدلات وضع البيض في حشرات حرشفية الأجنحة على نباتات الدخان بينما انطلاق (E) - # - بروجاموتين يزيد من معدلات الافتراس بواسطة المفترسات العامة . لقد أدت هذه الملاحظات إلى الحصول على أدلة تشير إلى أن الدفاعات غير المباشرة التي تعتمد على التربينات تخفف من حمل أكل النباتات على النبات في البيئة الطبيعية .

التداخلات التي تعال بالتربين لم تلاحظ فقط استجابة لتلف الأوراق ولكنها لوحظت كذلك استجابة لآكلات النباتات التي تتغذى على الجذور . يرقات خنفساء (دودة جذور الذرة الغربية) هامة كافة تصيب الذرة . استجابة للتغذية بواسطة اليرقات فإن جذور الذرة

تطلق إشارة تجذب بشدة النيماتودا الممرضة للحشرات (Boff et al. 2001) . الإشارة التي تنطلق بواسطة جذور الذرة تم تعريفها على أنها : $(E) - B - \text{caryophyllene}$ وهي أوليفين متعدد التربينات (الشكل ١٠-٦ D) . خطوط الذرة في أمريكا الشمالية لا يطلق $(E) - B - \text{caryophyllene}$ بينما الخطوط الأوربية وأسلاف الذرة البرية Teosinte تفعل ذلك استجابة للإصابة وهجوم D.V. Virgifera أظهرت التجارب الحقلية خمسة مرات أعلى في معدل العدوى بالنيماتودا بيرقات D.V. Virgifera على صنف الذرة الذي ينتج الإشارة عما هو الحال مع الصنف الذي لا ينتج الإشارة . معاملة التربة بالقرب من الصنف الأخير بواسطة المركب الأصلي $(E) - B - \text{caryophyllene}$ تخفض من خروج الحشرات الكاملة لأقل من النصف (Rasmann et al. 2005) .

ليست التغذية فقط ولكن التبويض كذلك في آكلات الأوراق تحفز انبعاث التربين في النباتات . ذبابة قش الصنوبر *Diprion pini* تضع بيضها على أشطاء الصنوبر وجروح سطح الأشواك . المواد المتطايرة التي تبعث استجابة لجذب وضع البيض تجذب الدبور الذي يتطفل على بيض الذبابة . الإشارة التي تجذب الدبور هي عديدى التربينات $(E) - B -$ فارنيسين والتي تميز فقط في الدمج مع الآخرين حيث تطلق مواد متطايرة من الصنوبر (Mumm et al. 2003) .

٢-٢- تداخل التربينات المتطايرة النباتية مع فورمونات الحشرات

العديد من أنواع المن تطلق فورمون تحذيري عديد التربينات $(E) - B -$ Farnescene الذي يخفض من خطر الافتراس للأنواع الأخرى من المن في المنطقة سواء عن طريق دفعها للحركة بعيداً أو عن طريق زيادة نسبة الأفراد المجنحة . لتحديد ما إذا كان $(E) - B -$ Farnescene النباتي يحاكي هذه التأثيرات تم خلق نباتات أرابيدوبسيس متحولة وراثياً تعبر بشكل فائق عن إنزيم $(E) - B -$ Farnescene spnthese من *Menthex piperigm* بواسطة (Beale et al. 2006) .

النباتات المتحولة وراثياً تطلق مستويات عالية من $(E) - B -$ Farnescene وتحفز استجابات التحذير والطرده في من الخوخ وتعطل الاستجابة في شبيه طفيل المن *Diaeretiella rapae* (Beale et al. 2006) . بالإضافة إلى ذلك فإن $(E) - B -$ Farnescene يجذب مفترسات أكثر وكذلك أشباه الطفيليات وهي من الأعداء الطبيعية للمن (Al - Abassi et al. 2000) . لذلك فإن انبعاث هذا الهورمون بعد الإصابة بالمن تحقق للنبات دفاعات مباشرة وغير مباشرة . كحول المونوتربين لينالول لا يعمل كفورمون بمفرده وكذلك يطرد من الخوخ في التجارب على نباتات الأرابيدوبسيس

المتحولة وراثياً والتي تعبر بشكل كبير عن إنزيم تربين سينسيز من الفراولة (Aharoni et al. 2003).

٢-٣ - التداخلات التي تعال بالتربين بين النباتات

النباتات التي تطلق مواد متطايرة تشجع تمثيل الدفاع في النباتات المجاورة . العملية تتضمن النسخ الزائد للجينات المرتبطة بالدفاع وتسمح للنبات بالاستجابة أسرع وأكثر عنفوانية ضد هجوم آكلات النباتات (Boldwin et al. 2006) . لقد أتضح أن معظم هذه التداخلات تعتمد على المواد المتطايرة المشتقة من مسار ليو أكسيجينيز وهو ما يطلق عليه " المواد المتطايرة للورقة الخضراء " . لا يعرف إلا القليل عن دور التربينات في الإبداء والتداخل نبات - نبات . دراسة واحدة فقط على فول اللبنة اقترحت دوراً للتربينات في هذا التداخل . عندما هوجمت هذه النباتات بواسطة العنكبوت الأحمر فإن النباتات المجاورة أصبحت أقل حساسية للأكاروسات وأكثر جذباً للأكاروسات المفترسة مثل *Persimilis* (Bruin et al. 1992) . نباتات فول اللبنة المصابة بالعنكبوت الأحمر تطلق خليط متطاير يسوده $1,3,7$ - $oeimene$ dimethyl - $(E) - 4,8$, $(E) - B$ - $DMNT$ وهي مونوتربين و C_{11} هومونوتربين على التوالي . في النباتات المجاورة فإن كل من هذه المركبات يحفز مستوى نسخ البروتينات المرتبطة بالمرض وإنزيم فينيل الانين أمونيا ليز (Arimura et al. 2002) . المركبات المتطايرة تزيد كذلك من تركيزات النسخ للإنزيمات المشاركة في التخليق الحيوي للتربين: ليبوكسي جينيز كتاليزيس وهي الخطوة الأولى في التخليق الحيوي للجسمونات وهو منظم هام للتخليق الحيوي للتربين والفريسنيل دايفوسفات سينسيز وهو الإنزيم الخاص بالتخليق الحيوي للتربين . من المثير للاهتمام أن مستويات نسخ هذه الجينات تحفز أسرع بعد تعريض فول اللبنة لمركب $DMNT$ والهومونوتربين المرتبط $(3E, 7E)$ $1,3,7,11$ - trimethyl - $4,8,12$ - tridecatetraene . في أنواع نباتية أخرى وجد أن هذه التربينات لم تكن فعالة في الإبداء . في نباتات الذرة على سبيل المثال لم تلاحظ أية تأثيرات بعد تعرض النباتات لمركب $DMNT$ الخارجية .

التربينات المتطايرة تلعب دوراً هاماً كذلك في إيجاد العائل بواسطة النباتات المتطفلة . بادرات العليق تفعل سلوك لإيجاد العائل يسترشد بواسطة المواد المتطايرة من العائل النباتي . البادرات ذات مقدرة على التمييز بين المواد المتطايرة للطمطم والقمح والعديد من التربينات المخلقة الأحادية والعديدة (الشكل ١٠-٦ C) . هذا يوضح تمييز النغمات الدقيقة للنباتات العوائل بواسطة تكوين انبعاثات التربينات الخاصة بها (Runyon et al. 2006) .

٣- المنظورية والرؤى

فى الحقبة الزمنية الأخيرة زودتنا الأجهزة عالية الحساسية والطرق العقلانية السهلة لجمع وتقدير وتعريف المواد المتطايرة برؤى أفضل عن التداخلات التى تعال بالتربينات فيما بين النباتات وأعدادها الطبيعية . إذا أخذ فى الاعتبار الأعداد الكبيرة من التربينات التى تنبعث والعائلات الكبيرة من جينات تربين سينسيز فإن اكتشاف العديد والكثير من هذه التداخلات أكثر احتمالاً . التقدم فى البيولوجيا الجزيئية تسهل البحوث على الجينات الخاصة بالتخليق الحيوى للتربينات وتنظيم انبعاث التربينات استجابة للإشارات الخارجية . توصيف جينات التخليق الحيوى للتربين تقدم كذلك وسائل لهندسة النباتات المتحولة وراثياً مع انبعاثات خاصة لمواد متطايرة مغايرة . فى المستقبل سوف تستمر هذه النباتات فى مساعدتنا فى حل لغز الوظائف الايكولوجية المعقدة لانبعاثات التربين .

References

- Aharoni A, Giri AP, Deuerlein S , Griepink E , de Kogel WJ , Verstappen FWA , Verhoeven HA , Jongsma MA , Schwab W , Bouwmeester HJ (2003) Terpenoid metabolism in wild – type and transgenic Arabidopsis plants , plant cell 15 : 866 – 2884
- Bruin J , Dicke M, Sabelis MW (1992) plant are better protected against spider – mites after exposure to volatiles from infested conspecifics , Experientia 48 : 525 – 529
- Chen F, Ro DK , Petri J, Gershenzon J , Bohlmann J, Pichersky E, Tholl D (2004) Characterization of a root – specific Arabidopsis terpene synthase responsible for the formation of the volatile monoterpene 1,8 – cineole . plant physiol 135 : 1956 – 1966
- Dicke M (1999) Are herbivore – induced plant volatiles reliable indicators of herbivore identity to foraging carnivorous arthropods ? Entomol Exp Appl 91 : 131 – 142
- Farag MA , Pare PW (2002) C6 – Green leaf volatiles trigger local and systemic VOC emissions in tomato , phytochemistry 61 : 545 – 554
- Guenther AB , Zimmerman PR , Harley PC , Monson RK , Fall R (1993) Isoprene and monoterpene emission rate variability – model evaluations and sensitivity analyses . J Geophys Res 98 : 12609 – 12617
- Howe GA (2004) Jasmonates as signals in the wound response . J Plant Growth Regul 33 : 223 – 237

- Johnson CB , Kirby J , Naxakis G , Pearson S (1999) Substantial UV – B – mediated induction of essential oils in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) phytochemistry 51 : 507 – 510
- Kunert G , Outo S , Rose USR , Gershenzon J , Weisser WW (2005) Alarm pheromone mediates production of winged dispersal morphs in aphids . Ecol Lett 8 : 596 – 603
- Molck G , Micha SG , Wyss U (1999) Attraction to odour of infested plants and learning behaviour in the aphid parasitoid *Aphelinus abdominalis* . J plant Dis protect 106 : 557 – 567
- Pare PW , Tumlinson JH (1997) De novo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants . plant phvsiol 114 : 1161 – 1167
- Ruther J , Furstenau B (2005) Emission of herbivore –induced volatiles in absence of a herbivoreresponse of *Zea mays* to green leaf volatiles and terpenoids . Z Naturforsch 60 : 743 – 756
- Spiteller D , Boland W (2003) N- (17 – acyloxy – acyl) – glutamines ; novel surfactants from oral secretions of lepidopteran larvae . J Org Chem 68 : 8743 – 8749
- Turlings TCJ , Tumlinson JH , Lewis WJ (1990) Exploitation of herbivore – induced plant odors by host – seeking parasitic wasps . Science 250 : 1251 – 1253
- Van Den Boom CEM , Van Beek TA , Posthumus MA , De Groot A , Dicke M (2004) Qualitative and quantitative variation among volatile profiles induced by *Terranychus urticae* feeding on plants from various families , J Chem Ecol 30 : 69 – 89

الباب الحادى عشر

دراسات مصرية عن إمكانية استخدام المواد الفعالة النباتية كأحد وسائل
المكافحة المتكاملة للآفات : تحفيز المقاومة النباتية

أولاً : إمكانية استخدام المواد الفعالة النباتية كأحد وسائل مكافحة الحيوية

رسالة دكتوراة للسيد / أحمد عبد السلام خميس للحصول على درجة الدكتوراة فى
العلوم الزراعية " كيمياء مبيدات الآفات " من كلية الزراعة جامعة الإسكندرية تحت
إشراف أ . د . ماهر إبراهيم على - أ . د . فوقيه عبد الفتاح عبد المجيد و د . صفاء
مصطفى عبد الرحمن عام ٢٠٠٩ .

أصبحت المكافحة المتكاملة للآفات هى السبيل لتحقيق مستهدفات المهتمين بمجال
المكافحة سواء على المستوى الأكاديمى أو التطبيقى لما لها من آثار إيجابية للتحكم الفعال
فى الآفات مع الحفاظ على جودة المنتج الزراعى بجانب المحافظة على البيئة بصورة
عامة. تتعدد وسائل المكافحة المتكاملة للآفات والتى منها زيادة القدرة الدفاعية للنبات
لمقاومة الإصابة بالأمراض ومهاجمة الآفات . يمكن اكساب النبات صفة المقاومة بطرق
بيوتكنولوجية معتمدة على التغيرات الجينية ومن الطرق الأخرى لإكساب النبات القدرة
على مقاومة الآفات هى إجراء عملية حث النبات لإنتاج مركبات نشطة حيويًا بتركيزات
تزيد قدرته الدفاعية ضد الآفات .

أجريت الرسالة بهدف دراسة إمكانية الحصول على محفزات للمقاومة النباتية وذلك
بتقييم استخدام بعض طرق الحث سواء كانت كيماوية أو طبيعية أو حيوية لإكساب النبات
صفة القدرة على مقاومة الآفات والأمراض مع الحفاظ على جودة المحصول كما ونوعاً
مع الأخذ فى الاعتبار البعد الاقتصادى والأمان البيئى . اشتملت الدراسة على تقييم
استخدام بعض المحفزات المعروفة وأيضاً الجديدة سواء كانت مواد كيماوية أو طرق
طبيعية أو مستحضرات حيوية عن طريق معاملة البذور وذلك لمحصولين من أهم
محاصيل الخضر (البسلة والفاصوليا) من حيث أهميتها المحلية والتصديرية . أجرى
البحث على ثلاث مستويات رئيسية الأول عبارة عن حصر وغرلة للمحفزات من حيث
قدرتها على حث النباتات لإنتاج المركبات الفينولية بأنواعها المختلفة ومن ثم زيادة القدرة
الدفاعية للنباتات دون ظهور أى مظاهر للسمية النباتية والمستوى الثانى هو تطبيق
للمعاملات المختلفة تحت ظروف البيوت الزجاجية بينما المستوى الثالث يمثل التجارب
الحقلية .

المحفزات المختبرة هي :

١- مواد كيميائية : الكيتوزان - الصمغ العربي - حامض الأسكوربك - حامض الساليسليك - زيت الجوجوبا - ٥,٣ داي كربوكسيل بيرازول - ميثيل جاسمولين - سليكات البوتاسيوم .

٢- طرق طبيعية : الحرارة الجافة والرطوبة - الأشعة فوق البنفسجية وأشعة الميكروويف .

٣- مستحضرات بيولوجية : مستحضر الهالكس المكون من مجموعة بكتريا مخصصة للنبات .

مثلت العلاقة بين تركيز المادة الكيميائية المختبرة مع زمن معاملة البذور في المحلول عاملاً أساسياً محدداً لكمية الفينول المستحثة مع عمر النبات وأيضاً فإن كمية الفينولات المستحثة في حالة الطرق الطبيعية ارتبطت بزمن المعاملة بينما في حالة المستحضر الحيوى ارتبطت بتركيز المستحضر . لذا فقد قيمت المحفزات بالاعتماد على تركيز الفينول المستحث في النبات كدلالة لكفاءتها ولقد استحدث التعبير " المعاملة المثلى للفينولات المستحثة " (OTIP) Optimum treatment of induced phenols " للدلالة عن المعاملات التى أنتجت أعلى كمية فينولات مع عدم ظهور أى مظاهر للسمية النباتية .

يمكن استعراض أهم النتائج المتحصل عليها كما يلي :

١- كانت المعاملة المثلى للفينولات المستحثة لكل من الكيتوزان وزيت الجوجوبا وحامض الأسكوربيك وحامض الساليسليك في حدود تركيزات من ١٠٠ - ٥٠٠٠ جزء في المليون ولفترة عدة ساعات في حالة البسلة بينما عدة دقائق فقط في حالة الفاصوليا .

٢- تحسنت الصفات النباتية للفاصوليا بالمعاملات حيث زاد كل من طول النبات والتفرع كما زاد الوزن الجاف بمعدل ثلاث أضعاف في حالة الهالكس وبمعدل الضعفين في حالة الكيتوزان والأشعة فوق البنفسجية وبمعدل ١,٥ ضعف في حالة الكربوكسيل بيرازول بالمقارنة بالكنترول .

٣- المستخلصات الفينولية لأوراق نبات الفاصوليا أظهرت تأثيراً بيولوجياً واضحاً على يرقات دودة ورق القطن حيث أظهرت المعاملة بالكيتوزان أعلى نسبة موت وكذلك أعلى نشاط كمانع للتغذية وأيضاً أعلى تثبيط لإنزيمات البروتينيز .

٤- ظهر انخفاضاً واضحاً فى إصابة نبات الفاصوليا بالآفات المختلفة حيث كانت النسبة المئوية للخفض فى الإصابة ١٠٠% فى حالة المعاملة بالكيوزان بالنسبة للمنّ والذبابة البيضاء وفى حالة المعاملة بالكربوكسيل بيرازول والهالكس فى حالة التربس وصانعات الأنفاق .

٥- بالنسبة لتأثير المحفزات المختلفة على كثافة بعض الأعداء الطبيعية (المتطفل الخارجى لصانعات الأنفاق ، أسد المنّ) أدت جميع المعاملات تحت الظروف الحقلية إلى زيادة المتطفل الخارجى لصانعات الأنفاق وكان أعلاها تأثيراً الهالكس والكربوكسيل بيرازول كما أدت معاملة الهالكس إلى زيادة معنوية فى تعداد أسد المنّ .

٦- جميع المعاملات بما فيها معاملة التطبيقات الزراعية التقليدية أدت إلى خفض نسبة الإصابة بمرض اللفحة الهالية فى قرون الفاصوليا وكان أفضلها معاملة الكيتوزان والدائى كربوكسيل بيرازول حيث نتج محصول بصفات تصديرية عالية الجودة .

٧- جميع المعاملات ما عدا معاملة المبيدات أدت لزيادة جودة المحصول النوعية حيث زادت نسب السكريات الذائبة والفيتامينات والكربوهيدرات وماتعات الأكسدة بقرون الفاصوليا وكانت أفضل النتائج لمعاملة الهالكس والكيتوزان .

٨- جميع معاملات المحفزات المختبرة أدت إلى زيادة عالية للمحصول بمعدل ٢ ، ١ ، ٦ أضعاف فى معاملة الكربوكسيل بيرازول والأشعة فوق البنفسجية وبمعدل ٤ ، ١ ، ٧ أضعاف فى معاملة الكيتوزان والهالكس وبالتالي أرباحية مرتفعة للمنتج ويرجع ذلك إلى خفض تكلفة الإنتاج وزيادة المنتج كما ونوعاً وكان أفضلها معاملة الكيتوزان والهالكس .

أثبتت الدراسات وجود علاقة وثيقة بين معاملات المحفزات المختبرة ومحتوى الفينولات فى كل من البسلة والفاصوليا وبالتالي حماية النباتات من الإصابة الحشرية والفطرية والحفاظ على الأعداء الطبيعية مما يعكس ذلك على زيادة كمية المنتج ورفع جودته خاصة محتواه من المواد المانعة للأكسدة مما يؤهله ليكون منتجاً متميزاً للتصدير .

عموماً يمكن القول أن استخدام محفزات لتكوين الفينولات فى النبات بتركيزات عالية تصلح كوسيلة مناسبة وفعالة لتطبيقها ضمن برنامج مكافحة المستتيرة وإدارة المحصول . وتعد هذه الدراسة من أحد الدراسات القليلة التى ألقت الضوء على عملية حث المقاومة النباتية بمعاملة البذور وقد تكون الأولى لمحاولة استخدام الكيتوزان وزيت الجوجوبا لهذا الغرض . وبناءً على النتائج المتحصل عليها يقترح استخدام أحد الوسائل سواء من المواد الطبيعية الخام كالكيتوزان وزيت الجوجوبا أو من المركبات الكيميائية كربوكسيل بيرازول أو من الطرق الطبيعية الأشعة فوق بنفسجية بمعاملة البذور كمحفزات للمقاومة النباتية فى حالة كل من البسلة والفاصوليا ومن الواضح أن هذه الطريقة مناسبة جداً للتطبيق فى الدول النامية بدلاً عن الطرق التى تحتاج لإمكانات مادية وتكنولوجية مرتفعة .

ثانياً : تأثير معاملات سمادية وحيوية على مكافحة مرض البياض الدقيقي فى بعض محاصيل الخضر .

رسالة مقدمة من الطالبة / مها حلمى محمد حسن للحصول على درجة الماجستير فى العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس ٢٠٠٩ - تحت إشراف د. مجدي جاد الرب محمد السمان ، د . مدحت كامل على السيد .

يعتبر مرض البياض الدقيقي على محاصيل الخضر أحد المشاكل المرضية الهامة ويعد محصول الفلفل ومحاصيل النباتات التابعة للعائلة القرعية أكثر تلك المحاصيل تأثراً بالمرض . سواءً في الزراعات المحمية أو المفتوحة ، حيث يسبب فقداً كبيراً في المحصول بالإضافة لاعتماد المزارعين على الرش الدوري بالمبيدات الفطرية لمكافحة المرض وهو ما يمثل تكلفة اقتصادية بالإضافة إلى تلوث المنتج الزراعي وآثاره الضارة على الصحة العامة . أدى ذلك إلى تطوير استخدام المستحضرات الكيميائية والبيولوجية بصفة منفردة أو متجمعة على حث نباتات الكنتالوب والفلفل لمقاومة مرض البياض الدقيقي وذلك تحت ظروف تجارب البيوت المحمية . وقد استخدمت المستحضرات الكيميائية سيليكات البوتاسيوم بتركيز (١٧ ملليمولر) ، فوسفات البوتاسيوم الأحادية والثنائية بتركيز (٥٠ و ١٠٠ ملليمولر) رشاً على المجموع الخضري بينما استخدمت المستحضرات البيولوجية *Bacillus subtilis* (عزلة واحدة) و *Trichoderma harzianum* (عزلتين) و *Trichoderma viride* (عزلة واحدة) و *Pseudomonas fluorescens* (عزلتين) كمعاملات للبذور والجذور . وقد أجريت هذه المعاملات قبل العدوى بالمسبب المرضي .

ويمكن إيجاز النتائج على النحو التالي :

١. تم أولاً اختبار مقاومة ثلاث أصناف من نباتات الكنتالوب ضد مرض البياض الدقيقي وهي صنف أناناس (Ananas) ، جاليا (Galia) وشهد دقي (Shahd Dokki) تحت ظروف الصوبة وذلك من خلال تقدير شدة الإصابة ومعدل تجرثم الفطر . حيث أظهرت النتائج تفاوت تلك الأصناف في حساسيتها للإصابة بالمرض ، حيث أظهر صنف شهد دقي أكثر تلك الأصناف حساسية في حين أظهر صنف أناناس مقاومة لهذا المرض ، بينما أظهر صنف جاليا حساسية متوسطة للإصابة وقد تم اختيار صنف شهد دقي (شديد الحساسية للإصابة) لاختبار المعاملات السمادية والحيوية .

٢. تم عمل تقييم ١٥ عزلة بكتيرية وفطرية مختلفة وتشمل : أربعة مركبات حيوية تجارية وتشمل : *Bio Zeid®* (*Trichoderma album*) و *Rhizo-N®* و *Bio Arc®* (*Bacillus megaterium*) و *Plant Guard®* و *B.subtilis* (B.subtilis)

(*Trichoderma harzianum*) وكذلك ٤ عزلات بكتيرية *Pseudomonas fluorescens* ، ٢ عزلة بكتيرية *P.putida* ، ٢ عزلة لفطر *T.viridae* ، ٣ عزلة لفطر *T.harzianum* . حيث أظهرت هذه المعاملات تفاوت في تأثيرها على شدة الإصابة بالبياض الدقيقي من خلال معاملة البذور والجذور ، وكانت أفضل تلك المعاملات الحيوية هي : *Rhizo-N® (B.subtilis)* و *Plant Guard® (Trichoderma harzianum)* ، *Pf1* ، *Pf2* ، وعزلة لكلا من *Trichoderma harzianum* عزلة (T1) ، *Trichoderma viridae* عزلة (T2) ، حيث تم اختيار هذه العزلات لإجراء الاختبارات الحيوية .

٣. أدت معاملات الرش بالتركيزات المستخدمة من المواد محل الدراسة إلى إكساب كلا من نباتات الكنتالوب صنف شهد دقي وكذلك نباتات الفلفل صنف كاليفورنيا وندر مقاومة تجاه مرض البياض الدقيقي من خلال إحداث خفض معنوي في شدة الإصابة بالبياض الدقيقي وكذلك خفض في أعداد الجراثيم المتكونة . وقد ازدادت المقاومة وكانت أكثر وضوحاً في حالة الرش الورقي بمادة سيليكات البوتاسيوم بتركيز ١٧ ملليمولر يليها المعاملة بفوسفات البوتاسيوم الأحادية والثنائية بتركيز ١٠٠ ملليمولر .

٤. أدت المعاملة الحيوية بكلاً من *Rhizo-N® (B.subtilis)* و *Plant Guard® (Trichoderma harzianum)* إلى زيادة المقاومة في نباتات الكنتالوب والفلفل والمتمثلة في خفض كلاً من النسبة المئوية لشدة الإصابة وكذلك خفض في أعداد الجراثيم المتكونة .

٥. أظهرت المعاملات المشتركة بكلاً من المعاملات السمادية والحيوية أفضل النتائج في خفض شدة الإصابة ومعدل التجزئ مقارنة بالمعاملات المنفردة بكل منهم ، حيث أظهرت المعاملة المشتركة بكلاً من سيليكات البوتاسيوم سواء بالدمج مع *Rhizo-N®* أو *Plant Guard®* أفضل تلك المعاملات فاعلية .

٦. تم دراسة تأثير المعاملات السمادية والحيوية على محتوى الكلوروفيل ، حيث أدت المعاملات إلى تقليل الخفض في محتوى الكلوروفيل الناتج عن الإصابة بالمرض .

٧. ارتبطت المعاملات السمادية والحيوية المختلفة بزيادة المحتوى الكلي للفينولات ، حيث أظهرت المعاملة بكلاً من سيليكات البوتاسيوم (١٧ ملليمولر) وفوسفات البوتاسيوم الثنائية (١٠٠ ملليمولر) أفضل النتائج في زيادة محتوى الفينولات مقارنة بالنباتات الغير معاملة .

٨. لوحظ زيادة عالية في نشاط إنزيم البيروكسيداز والبولي فينول أكسيداز في النباتات المعاملة بكلاً من سيليكات البوتاسيوم (١٧ ملليمولر) وفوسفات البوتاسيوم الأحادية والثنائية (١٠٠ ملليمولر) وكذلك المعاملة الحيوية بـ Rhizo-N® وارتبطت هذه الزيادة بأفضل المعاملات السمادية والحيوية المحدثة لخفض شدة الإصابة .

٩. أظهرت نتائج فصل النظائر الإنزيمية للبيروكسيداز باستخدام الفصل الكهربائي على رقائق الاكريلاميد للعينات النباتية أن كلاً من مادة سيليكات البوتاسيوم وفوسفات البوتاسيوم الأحادية أدت إلى تكوين نوع جديد من النظائر الإنزيمية للبيروكسيداز في الفلفل في حين أدت المعاملة الحيوية بـ Plant Guard® إلى تكوين اثنين من النظائر الإنزيمية للبيروكسيداز في نباتات الفلفل .

١٠. أثبتت نتائج فصل البروتين الذائب المستخلص من نباتات الكنتالوب ظهور حزم بروتينية جديدة كنتيجة للمعاملات السمادية المختلفة ، حيث أظهرت المعاملة بسيليكات البوتاسيوم (١٧ ملليمولر) وفوسفات البوتاسيوم الأحادية (١٠٠ ملليمولر) ظهور حزمة بروتينية ذات وزن جزيئي ٥١,٩ و ٩,٨ كيلو دالتون على التوالي في حين أظهرت المعاملة بفوسفات البوتاسيوم الثنائية ظهور ثلاث حزم بروتينية ذات أوزان جزيئية مختلفة ٩٢,٤ و ١٨,٠ و ٨,٥ كيلو دالتون . أظهرت نتائج فصل البروتين في نباتات الفلفل أيضاً بتلك المركبات ظهور حزم بروتينية متباينة فقد أظهرت المعاملة بكلاً من سيليكات البوتاسيوم (١٧ ملليمولر) وفوسفات البوتاسيوم الثنائية (١٠٠ ملليمولر) ظهور حزم بروتينية مميزة ذات وزن جزيئي منخفض هما ٢٢,٢ و ٢٠,٥ كيلو دالتون على التوالي في حين أظهرت المعاملة بفوسفات البوتاسيوم الأحادية (١٠٠ ملليمولر) ثلاث حزم بروتينية ذات أوزان جزيئية مختلفة هما ٧٣,٢ و ٣٨,٠ و ٢٢,٢ كيلو دالتون . كما أدت المعاملة بكلاً من Rhizo-N® إلى ظهور حزمتين بروتينيتين ذات وزن جزيئي منخفض هما ٣٧,٦ و ٢٢,٢ كيلو دالتون في حين أدت المعاملة بـ Plant Guard® إلى ظهور حزمة بروتينية جديدة ذات وزن جزيئي ٢٢,٢ كيلو دالتون .

١١. تم دراسة تأثير المعاملات المختلفة سواء سمادية أو حيوية على صفات النمو المختلفة والمتمثلة في الوزن الغض والجاف ، أطوال النباتات ومساحة الورقة وكذلك عدد الأوراق لكل نبات في الكنتالوب ومعدل تساقط الأوراق في نباتات الفلفل ، حيث أدت المعاملات إلى تحسين صفات النمو المختلفة مقارنة بالنباتات الغير معاملة والمعدية بالفطر حيث ارتبطت نتائج تحسين صفات النمو بخفض شدة الإصابة .

نستنتج من هذه الدراسة الآتي :

قدرة المعاملات المختلفة سواء معاملة رش الأوراق السفلية لنباتات الكنتالوب والفلفل بالمركبات السمادية أو معاملة البذور والجذور بالعوامل الحيوية على خفض شدة الإصابة بالبياض الدقيقي كنتيجة للمعاملة المسبقة بهذه العوامل المختبرة سواء من خلال المعاملات المنفردة أو بالدمج بين هذه المعاملات تحت ظروف الصواب . كما تؤكد النتائج قدرة هذه العوامل المختبرة على حث نباتات الكنتالوب والفلفل لمقاومة مرض البياض الدقيقي جهازياً. مما يساهم في إلقاء الضوء نحو تطبيق دمج المعاملات السمادية والحيوية معاً في برامج مكافحة المتكاملة لأمراض البياض الدقيقي كأحدى وسائل المقاومة الآمنة لأمراض النبات .

ثالثاً : إحداث المقاومة في نباتات القمح ضد مرض صدأ الأوراق المتسبب عن فطر *Puccinia triticina*

رسالة مقدمة من الطالبة / ماريان شكري ثابت للحصول على درجة ماجستير في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس عام ٢٠٠٨ تحت إشراف أ.د. سمير حسن محمود الديب ، أ.د. سعيد عواد شحاتة ، د. عماد الدين علي مصطفى جادو عام ٢٠٠٨ .

يعتبر القمح من أهم محاصيل الحبوب كغذاء للإنسان ، وبلغت المساحة المنزرعة من القمح في مصر أقصاها موسم ٢٠٠٧ حوالي ٢,٨ مليون فدان أنتجت حوالي ٨,١٨٥ مليون طن . ويتعرض القمح للعديد من الأمراض الفطرية أهمها في مصر الأصداء والتقمح السائب والبياض الدقيقي .

تعتبر أصداء القمح من أهم الأمراض التي تسبب خسائر للمحصول حيث أن لها قدرة ديناميكية على إنتاج سلالات أو طرز مرضية جديدة قادرة على كسر صفة المقاومة ، بالإضافة إلى قدرة الجراثيم اليوريدية على الانتقال الفعال بواسطة الرياح عبر الدول ، مما يؤكد استمرارية دراسة هذه الديناميكية والبحث عن مصادر المقاومة الفعالة والأكثر استدامة . لذلك تحتاج إلى جهود مستمرة من تعاون بين الباحثين في مجال تربية النباتات وأمراض النباتات لإنتاج أصناف عالية المحصول ومقاومة للأصداء .

تعتبر المقاومة الجهازية المكتسبة من أهم الطرق الحديثة المستخدمة في مقاومة صدأ الأوراق حيث يتم حث النبات على المقاومة من خلال تثبيط بعض العمليات الفسيولوجية داخل النبات بدون التأثير على جينوم النبات .

أجريت خلال هذه الدراسة العديد من التجارب وذلك بهدف حصر وتعريف لأهم السلالات الفسيولوجية لفطر صدأ الأوراق *Puccinia triticina* في بعض المحافظات المصرية ودراسة تأثير بعض المستحاثات على شدة الإصابة مع دراسة التفاعل ما بين العائل والمسبب المرضي والمواد المستخدمة للحث على المقاومة من خلال بعض الدراسات الفسيولوجية والدراسات الميكروسكوبية .

أجريت التجارب الخاصة بهذا البحث في صوب ومعامل قسم أمراض النبات بكلية الزراعة - جامعة عين شمس كما أجريت بعض التجارب في صوب قسم بحوث أمراض القمح بمعهد أمراض النبات بمركز البحوث الزراعية - الجيزة وذلك خلال موسمي ٢٠٠٤/٢٠٠٥ - ٢٠٠٥/٢٠٠٦ .

ويمكن تلخيص أهم النتائج المتحصل عليها في هذه الرسالة في النقاط التالية :

١. تم خلال موسمي ٢٠٠٣/٢٠٠٤ - ٢٠٠٤/٢٠٠٥ حصر لسلالات فطر صدأ الأوراق المتسبب عن فطر *Puccinia triticina* من خلال حقول القمح وتجارب مصائد أصداء القمح المصرية . وذلك بجمع عينات من بعض محافظات شمال ووسط وجنوب مصر وهي الإسكندرية ، كفر الشيخ ، البحيرة ، دمياط ، الشرقية ، الدقهلية ، القليوبية ، المنوفية ، الفيوم ، بني سويف ، سوهاج، قنا .

أ- تعريف السلالات الفسيولوجية أو الطرز المرضية :

تم تعريف السلالات الفسيولوجية لفطر صدأ أوراق القمح خلال موسمي ٢٠٠٣/٢٠٠٤ - ٢٠٠٤/٢٠٠٥ وحصلنا على النتائج التالية :

- خلال موسم ٢٠٠٣/٢٠٠٤ تم تعريف ١٢ سلالة فسيولوجية وكان أكثرها تكراراً سلالة رقم ٦٠ يليها سلالة رقم ٧٧ .
- خلال موسم ٢٠٠٤/٢٠٠٥ تم تعريف ١٢ سلالة فسيولوجية وكان أكثرها تكراراً سلالة ١٤٩ رقم سلالة رقم ٧٧ .

ب- التوزيع الجغرافي للسلالات الفسيولوجية لفطر *Puccinia triticina* في بعض المحافظات المصرية :

تم حصر السلالات الفسيولوجية التي تم تعريفها في بعض المحافظات المصرية خلال موسمي ٢٠٠٣/٢٠٠٤ - ٢٠٠٤/٢٠٠٥ وكانت النتائج كالاتي :

- خلال موسم ٢٠٠٣/٢٠٠٤ احتلت محافظة الشرقية المرتبة الأولى من حيث العزلات التي تم عزلها ، يليها محافظة الإسكندرية .

- خلال موسم ٢٠٠٤/٢٠٠٥ احتلت محافظة الشرقية المرتبة الأولى من حيث المعاملات التي تم عزلها ، يليها محافظة الدقهلية والفيوم .

٢. الحث على المقاومة :

أجرى هذا البحث لدراسة كفاءة بعض المواد الكيميائية المختلفة على إكساب بادرات القمح مقاومة ضد مرض صدأ الأوراق وقد تم استخدام صنف قابل للإصابة (سدس ١) وصنف متوسط القابلية للإصابة (جيزة - ١٦٨) وتم معاملة البادرات في عمر ١٤ يوم (مرحلة ورقتان) بأحد المعاملات التالية :

- البيون BTH (٠,٣ - ٠,٦ - ١ ملي مول) .
- حمض بيتا أمينو بيوثيريك B-ABA (٢٥٠ - ٥٠٠ - ١٠٠٠ ميكروجرام/مول) ، حمض الساليسيك SA (٢٥٠ - ٥٠٠ - ١٠٠٠ ميكروجرام/مول) .
- إندول حمض الخليك IAA (٢٥ - ٥٠ - ١٠٠ ميكروجرام/مول) .

ثم أجريت العدوى بالفطر بعد المعاملة بخمسة أيام . وقد كانت النباتات ذات ثلاثة أوراق وبذلك فقد تم تقدير الإصابة وكذلك التأثيرات الفسيولوجية والتشريحية المختلفة في مكان المعاملة بالمستحثات (الورقة الثانية) وكذلك في مكان لم يعامل (الورقة الثالثة) وذلك لمعرفة هل تنقل الإشارة المسؤولة عن المقاومة من مكان تكونها إلى باقي النبات أم لا وذلك بعد ١٥ يوم من العدوى بفطر *Puccinia triticina* .

وقد أظهرت النتائج ما يلي :

١. أدت التركيزات المستخدمة من المواد محل الدراسة إلى إكساب بادرات القمح مقاومة تجاه مرض صدأ الأوراق وذلك من خلال حدوث نقص واضح في طرز الإصابة ومتوسط عدد البثرات في وحدة المساحة في كلا الصنفين القابل للإصابة ومتوسط القابلية للإصابة .

٢. وقد ازدادت المقاومة بزيادة التركيز وكانت أكثر وضوحاً في حالة رش البادرات بمادة B-ABA بتركيز ١٠٠٠ ميكروجرام/مل يتبعها المعاملة بمادة IAA بتركيز ١٠٠ ميكروجرام/مل حيث أن كلا المعاملتين تؤدي أحياناً إلى ظهور عرض التبقع فقط دون تطورها إلى مرحلة ظهور البثرات وكان أقل المواد المستخدمة تأثيراً هي مادة SA بتركيز ١٠٠٠ ميكروجرام/مل . وكان التأثير أكثر وضوحاً في العينات المأخوذة من الورقة الثالثة (التي لم يتم رشها بالمعاملات المختلفة) عن تلك الخاصة بالورقة الثانية (التي تم رشها بالمعاملات)

من خلال هذه النتيجة يظهر تأثير المقاومة المكتسبة وانتقالها خلال الأنسجة الغير معاملة .

٣. أدت المعاملات محل الدراسة إلى زيادة الفينولات الحرة في كلا من الصنفين القابل ومتوسط القابلية للإصابة وكانت أفضل المعاملات هي مادتي IAA - SA وذلك على مستوى الورقة الثانية والورقة الثالثة .

كما أظهرت النتائج زيادة واضحة في الفينولات المرتبطة في حالة الصنف القابل للإصابة بينما قلت في حالة الصنف متوسط القابلية ووجد أن الرش بالمعاملات المختلفة يعمل على زيادة الفينولات المرتبطة في حالة الصنف القابل للإصابة وكان أفضل المعاملات هي B-ABA بينما عملت على تقليل الفينولات المرتبطة في الصنف متوسط القابلية للإصابة ولوحظ نفس النتائج بالنسبة للفينولات الكلية على مستوى الصنفين القابل ومتوسط القابلية للإصابة .

وبصفة عامة كانت الزيادة أكثر على مستوى الورقة الغير معاملة (الورقة الثالثة) عن الورقة المعاملة (الورقة الثانية) .

٤. لوحظ أيضاً زيادة عالية في نشاط إنزيم البيروكسيديز في النباتات المعدة بالفطر مقارنة بالنباتات السليمة وذلك على مستوى الورقة الثانية والثالثة في كلا الصنفين القابل والمقاومة للإصابة .

ووجد أن الرش بالمعاملات المختلفة يعمل على زيادة نشاط إنزيم البيروكسيديز وكانت أفضل المعاملات هي مادة B-ABA ومادة IAA في كلا الصنفين على مستوى الورقة الثانية أما على مستوى الورقة الثالثة فكانت أفضل المعاملات هي مادة B-ABA ومادة IAA في الصنف القابل للإصابة بينما مادة BTH ومادة B-ABA في الصنف متوسط القابلية للإصابة .

وبصفة عامة كانت الزيادة على مستوى الورقة المعاملة أكبر من الورقة الغير معاملة وذلك في كلا الصنفين .

٥. لوحظ أيضاً نقص في نشاط إنزيم البولي فينول أكسيديز في النباتات المعدة بالفطر مقارنة بالنباتات السليمة وذلك على مستوى الورقة الثانية والثالثة في كلا الصنفين الحساس ومتوسط القابلية للإصابة .

ووجد أن الرش بالمعاملات المختلفة يعمل على زيادة نشاط إنزيم البولي فينول أكسيديز وكانت أفضل المعاملات على مستوى الورقة الثانية (التي تم معاملتها) هي مادة BTH ومادة IAA في الصنف القابل للإصابة بينما مادة B-ABA ومادة BTH في الصنف المقاوم للإصابة . أما على مستوى الورقة الثالثة (التي لم يتم معاملتها) فكانت كل

المعاملات تعمل على نقص واضح في نشاط الإنزيم ماعدا معاملة IAA وذلك في الصنف القابل للإصابة بينما حدث زيادة في نشاط الإنزيم عند الرش بالمعاملات المختلفة في الصنف متوسط القابلية للإصابة وكانت أفضل المعاملات هي مادة BTH ومادة B-ABA.

وبصفة عامة كانت الزيادة على مستوى الورقة الثانية أكبر من الورقة الثالثة وذلك في كلا الصنفين .

٦. أمكن فصل النظائر الإنزيمية للبيروكسيداز باستخدام الفصل الكهربائي على رقائق الاكريلاميد للعينات النباتية المعاملة بمادة B-ABA ومادة IAA حيث وجد أن مادة B-ABA تعمل على تكوين اثنين من النظائر الإنزيمية للبيروكسيداز على مستوى الورقة الثانية في الصنف القابل للإصابة ونظير إنزيمي واحد على مستوى الورقة الثالثة في الصنف متوسط القابلية للإصابة . أما مادة IAA عملت على تكوين نظير إنزيمي واحد على مستوى الورقة الثانية في الصنف القابل للإصابة واثنين من النظائر الإنزيمية على مستوى الورقة الثالثة في الصنف متوسط القابلية للإصابة .

٧. أثبت فصل البروتين الذائب المستخلص من النباتات تحت تأثير المعاملة بمادة B-ABA أن العوامل المحثة على المقاومة تعمل على بناء البروتين المرتبط بالعدوى من العائلة (PR1) ، وقد ظهرت حزمة مميزة ذات وزن جزيئي ٢٢,٢ كيلو دالتون على مستوى الورقة الثانية والثالثة في كلا الصنفين القابل ومتوسط القابلية للإصابة . بينما ظهرت حزمة مميزة ذات وزن جزيئي ٢٩,٨ كيلو دالتون على مستوى الورقة الثالثة فقط في كلا الصنفين .

٨. استخدم المجهر الضوئي والفلورسنتي وكذلك المجهر الإلكتروني الماسح وذلك لإلقاء مزيد من الضوء على التفاعلات بين العائل والطفيل وكذلك تطور حدوث المرض على سطح العائل وكانت أهم النتائج المتحصل عليها ما يلي :

- لوحظ أن المعاملات لم تؤثر على إنبات الجراثيم ولكن تأثر معدل تكوين أعضاء الالتصاق للفطر وكان أفضل المعاملات هي مادة B-ABA ومادة IAA .

- تؤدي المعاملات إلى قلة انتشار الهيفات خلال النسيج المتوسط للأوراق كما لوحظ تقليل الضرر والتهتك الحادث بالخلايا النباتية لكونها أكثر مقاومة وتحملاً للإصابة وذلك خلال مرحلتي flecks ومرحلة البثرات وكان أفضل المعاملات هي مادة B-ABA ومادة IAA .

• تؤدي المعاملات إلى تقليل مساحة البثرات على النباتات الحساسة ومتوسط القابلية للإصابة وكان أفضل المعاملات هي مادة B-ABA ومادة IAA وكان التأثير أكثر وضوحاً في حالة الصنف متوسط القابلية للإصابة .

• لوحظ بعض التغيرات في خلايا النسيج المتوسط والحزم الوعائية نتيجة حدوث الإصابة حيث وجد أن خلايا غلاف الحزمة بدأ يحدث لها تهتك وانكماش مع وجود خلل في شكل نسيج اللحاء مع قلة تكوين العناصر الغربالية في اللحاء وذلك في الأوراق المصابة ولكن وجد أن الرش بمادتي B-ABA - IAA تعمل على تكوين حزم وعائية قريبة إلى الشكل الطبيعي مع قلة الخلل الحادث في خلايا النسيج المتوسط والعناصر الغربالية لنسيج اللحاء .

• ترتب على ارتفاع تركيزات المركبات الفينولية في البادرات المعاملة ، زيادة واضحة في ترسيبات اللجنين في الحزم الوعائية في حالة الصنف القابل للإصابة وذلك في حالة المعاملة بمادتي B-ABA - IAA .

• وجد أن بعض الخلايا حدث بها ردة فعل الحساسية الزائدة نتيجة لحدوث الإصابة وذلك في الصنف متوسط القابلية للإصابة ، وذلك عند المعاملة بمادة B-ABA ووجد أن هذه الخلايا تعطي وميض أصفر فلورسنتي وفي المراحل المتأخرة من الإصابة نجد أن أسفل البثرة جميع الخلايا تعطي وميض فلورسنتي وذلك عند الفحص بالميكروسكوب الفلورسنتي لبعض العينات التي تم صبغها بصبغة trypan blue .

ومن خلال الدراسة أيضاً وجد أن أجزاء الفطر المختلفة (الجراثيم اليوريدية - أنبوب الإنبات - البثرات) تعطي وميض فلورسنتي بدون استخدام أي نوع من الصبغات الفلورسنتية .

وبصفة عامة يمكن استنتاج الآتي :

• قلة معدلات الإصابة بمرض صدأ الأوراق في مكان الرش بالمستحاثات المستخدمة (الورقة الثانية) بالإضافة إلى ذلك وجد أن هذا التأثير ينتقل إلى الورقة الثالثة (التي لم يتم معاملتها بالمواد المحثة) وبالتالي تؤكد النتائج قدرة هذه المركبات على حث نباتات القمح لمقاومة مرض صدأ الأوراق جهازياً .

رابعاً : السمات الجزيئية لآليات المقاومة المستحثة لمرض الذبول الفيوزاريومي في البطيخ

رسالة مقدمة من الطالب / عماد الدين علي مصطفى جادو للحصول على درجة دكتوراه فلسفة في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس عام ٢٠٠٣ تحت إشراف أ.د. مصطفى حلمي مصطفى و أ.د. مديح محمد علي و أ.د. أحمد بهي الدين محمد عام ٢٠٠٣ .

يعتبر مرض الذبول الفيوزاريومي في البطيخ أحد أخطر الأمراض التي تحدث من زراعته في التربة الحاملة للمسبب المرضي . من أهم الاتجاهات الحديثة لمقاومة هذا المرض هو الحث على مقاومة النبات للإصابة باستخدام عوامل حيوية وعوامل غير حيوية. قد استهدفت هذه الدراسة التوصل لآليات المقاومة المستحثة في النباتات المعاملة بالعوامل غير الحيوية . يمكن تلخيص أهم نتائج هذه الدراسة فيما يلي :

١. أمكن التعرف على المسبب المرضي لذبول البطيخ على أنه *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (العزلة ٢) .

٢. تباينت درجة مقاومة أصناف البطيخ للإصابة بالعزلة القوية للمسبب المرضي وقد أظهر الصنف ديكسي لي مقاومة عالية والصنف جيزة ١ مقاومة متوسطة والبطيخ السوداني صنف جورما حساسية عالية للمسبب المرضي .

٣. عزلة الفطر المقاومة للمبيد الفطري بنليت فقدت كثيراً من قدرتها المرضية على الأصناف الثلاثة المختبرة ديكسي لي وجيزة ١ وجورما .

٤. أدت معاملة بذور الأصناف الثلاثة السابقة الذكر وبحمض السليسيليك أو فوق أكسيد الهيدروجين لإحداث المقاومة بها ضد مسبب مرض الذبول سواء على مستوى الأصص أو باستخدام تقنية أطباق البتري .

٥. تم تقدير نشاط إنزيم البيروكسيديز الذائب باستخدام الجواياكول ، الكساتيكول أو البيرجاللول في النباتات المحقونة بالعزلة الممرضة والسلالة غير الممرضة وقد وجد أن الجواياكول هو أكثر مواد التفاعل حساسية لنشاط إنزيم البيروكسيديز وقد لوحظ نظم نشاط مختلفة وأن حمض السليسيليك وفوق أكسيد الهيدروجين أعطت أعلى النتائج وعلى الأخص في حالة النباتات المحقونة بالعزلة الشديدة من المسبب المرضي .

٦. تم تقدير نشاط البيروكسيديز المرتبط بالميتوكوندريا باستخدام البيرجاللول كمادة تفاعل وقد وجد أن نشاط هذا النمط من البيروكسيديز يتزايد في النباتات المعاملة بعوامل الحث على المقاومة (حامض السليسيليك أو فوق أكسيد الهيدروجين) .

٧. أمكن فصل النظائر الإنزيمية للبيريوكسيداز السيتوبلازمي باستخدام الفصل الكهربائي على رقائق الاكريلاميد وأظهرت الحزم الإنزيمية إما باستخدام البنزدين كلورايد ، الجواياكول ، الكاتيكل أو البيرجاللول وقد تباينت النظائر الإنزيمية بشدة طبقاً لمادة التفاعل المستخدمة في الإظهار .

٨. اتضح أن إنزيم البيريوكسيداز المتخصص في أكسدة الكاتيكل يغيب تماماً في النباتات غير المحقونة وكذا النباتات المحقونة بالعزلة القوية وقد اتضح أن النباتات المحقونة بالعزلة ضعيفة الأمراض أو المعاملة حامض السليسيلاك أو فوق أكسيد الهيدروجين تحوي هذا النظام الإنزيمي مما يؤكد أن نظائر هذا الإنزيم ترتبط بعمليات المقاومة الطبيعية وكذلك بالعوامل المحثة على المقاومة .

٩. أثبت فصل البروتين السيتوبلازمي الذائب المستخلص من النباتات تحت تأثير المعاملات المختلفة أن المقاومة الطبيعية والعوامل المحثة على المقاومة تعمل على بناء البروتين المرتبط بالعدوى من العائلة (PR1) ، وقد ظهرت حزمة مميزة ذات وزن جزيئي ٢٩ - ٣٠ كيلو دالتون . هذه الحزمة تميز النظام الأكسيدازي البديل ، مما يؤكد على أن المقاومة الطبيعية في البطيخ تتم عبر النظام الأكسيدازي البديل في الميتوكوندريا .

١٠. اتضح أن معاملة البذور بالمضاد الحيوي كلورا مفنيكول تدمر تماماً المقاومة الطبيعية لنباتات البطيخ ولما كان هذا المضاد الحيوي يوقف بناء البروتين في النظام الميتوكوندري S70 مما يؤكد على الدور الهام الذي تلعبه الميتوكوندريا في المقاومة .

١١. بدراسة المشابهات الإنزيمية للبيريوكسيداز الميتوكوندري المظهر بواسطة الكاتيكل اتضح وجود علاقة بين آليات المقاومة الطبيعية والمقاومة المستحثة . وقد ثبت أن هذا الإنزيم ذو طبيعة سيتوبلازمية .

١٢. بدراسة نظام البروتين الميتوكوندري تحت تأثير المعاملة بالكلورا مفينيكول وكذا المقاومة المستحثة ثبت تباين هذا النظام تحت تأثير هذه المعاملات وقد وجد أن حزمة البروتين ذات الوزن الجزيئي ٢٩ - ٣٠ كيلو دالتون تغيب تماماً في جميع حالات المعاملة بالكلورا مفينيكول وتعتبر هذه الحزمة أحد مكونات النظام الأكسيدازي البديل مؤكدة أن بعض مكونات هذا النظام ذات أصل ميتوكوندري .

١٣. أمكن فصل البروتين السيتوبلازمي بواسطة الفصل الكهربائي وقد وجد أن المعاملة بالكلورا مفينيكول تسبب اختزال في عدد حزم البروتين بالمقارنة بالنباتات غير المعاملة وقد أدت المقاومة الطبيعية والمستحثة بواسطة حمض

السليسيلايك أو فوق أكسيد الهيدروجين لظهور حزمة ذات وزن جزيئي ٣٥ - ٣٧,٧ كيلو دالتون ، وتنتمي هذه الحزم للنظام الأكسيدازي البديل .

١٤. أدت النتائج المتحصل عليها إلى افتراض أن المقاومة الطبيعية تحدث عن طريق الميتوكوندريا مؤدية لتغيير النظام الأكسيدازي الطبيعي إلى آخر بديل والنظام البديل هو المسئول عن إنتاج فوق أكسيد الهيدروجين في النباتات . يعمل فوق أكسيد الهيدروجين كنبضة تحفز تكوين مختلف وسائل المقاومة في النباتات وقد ثبت كذلك أن حمض الساليسيليك وفوق أكسيد الهيدروجين يمكن أن يحلا محل المقاومة الطبيعية عن طريق نظام الأكسيدازي البديل .

خامساً : مكافحة بعض أمراض المجموع الخضري الفطرية في الفول البلدي باستخدام معاملات حيوية وغير حيوية

رسالة الماجستير المقدمة من السيد / يوسف محمود عبد الحميد إسماعيل للحصول على درجة الماجستير في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس عام ٢٠٠٤ تحت إشراف أ.د. نجوى عبده مصطفى جميل ، أ.د. أحمد أحمد أحمد موسى ، أ.د. جميلة إبراهيم سليمان عام ٢٠٠٤ .

يعتبر الفول البلدي أهم المحاصيل البقولية في مصر ، إلا أنه يتعرض للإصابة بالعديد من الأمراض الفطرية التي تهاجم المجموع الخضري للنبات أهمها أمراض التبقع البني (الشيكلاتي) ، والصدأ وتبقعات الأوراق الأخرى والتي تسبب خسائر كبيرة في المحصول كما ونوعاً خاصة في مناطق الزراعة في شمال الدلتا والأراضي الجديدة . ونظراً للاتجاه إلى ترشيد استخدام المبيدات في مكافحة تلك الأمراض نظراً لخطورتها المحتملة على صحة الإنسان والحيوان والنظام البيئي ، وكذلك نظراً لظهور سلالات فطرية مقاومة لتأثيرها ، فقد صممت هذه الدراسة بهدف استخدام بعض العوامل الحيوية وغير الحيوية كبدايل للمبيدات الفطرية لمكافحة تلك الأمراض .

ويمكن تلخيص نتائج هذه الدراسة فيما يلي :

١. تم حصر الإصابة بأمراض المجموع الخضري الفطرية في الفول البلدي في بعض المناطق المستصلحة في مصر خلال موسم نمو ٢٠٠٠-٢٠٠١ ، وسجل انتشار أمراض التبقع الشيكلاتي والصدأ وتبقع الأوراق الألتراناري وتبقع الأوراق الإستيمفيلي ، واختلفت شدة الإصابة بهذه الأمراض بين المناطق المختلفة، حيث كان مرض التبقع الشيكلاتي أكثر الأمراض انتشاراً في كل المناطق .

٢. كانت أكثر الممرضات الفطرية المعزولة تكراراً عند العزل من تبقعات الأوراق المختلفة على النحو التالي ، *Alternaria alternata* , *Botrytis cinerea* , *Botrytis fabae* , *Stemphylium botryosum* .

٣. عزلت الفطريات والبكتريا القاطنة لسطوح الأوراق وقدرت أعدادها من عينات أخذت من ثلاثة مستويات مختلفة لأوراق النباتات صنف جيزة ٣ ، حيث كانت أعلى الأعداد البكتيرية من أوراق المنطقة الوسطى بعد ٩٠ يوماً ، بينما حصل على أعلى أعداد للفطريات من أوراق المنطقة السفلى والوسطى بعد ٩٠ يوماً في حين سجلت أقل أعداد للبكتيريا والفطريات من أوراق المنطقة العليا .

٤. تم دراسة التأثير التضادي لـ ٤٤ عزلة فطرية و ٢٥ عزلة بكتيرية على فطر *Botrytis fabae* في المعمل ، حيث أدت ١٠ عزلات بكتيرية و ٧ عزلات فطرية إلى تثبيط نمو الفطر *Botrytis fabae* وكانت العزلة (*Bacillus* (B11) *subtilis* أقوى العزلات تثبيطاً لنمو فطر *B.fabae* .

٥. اختلف ١٣ عزلة فطرية وبكتيرية في قدرتها على خفض درجة التلون وانتشار البقع المتكونة بفعل الفطر *Botrytis fabae* على الأوراق المفصولة في حين كانت بكتريا (*Bacillus subtilis* (B11) أكثر العزلات فعالية في خفض تطور تكوين وتلون البقع .

٦. أدت معاملات رش المجموع الخضري ببكتيريا (*Bacillus subtilis* (B11) والعامل الحيوي التجريبي إلى خفض شدة الإصابة لأمراض التبقع الشيكولاتي والصدأ وتبقع الأوراق الألترناري إلا أن المركب الحيوي Bioarc1 كان أكثر فاعلية في خفض شدة الإصابة لتلك الأمراض عن بكتيريا B11 .

٧. قيمت فعالية مركبات فوسفات البوتاسيوم الثنائية ، كلوريد الحديدك ، حامض الساليسيليك ، والإيثيفون وكبريتات الكوبلت (معاملات منفردة) ، سواء كمعاملة نقع البذور أو رش المجموع الخضري ، لمكافحة مرض التبقع الشيكولاتي باستخدام طريقة الأوراق المفصولة ، حيث أدت كل معاملات نقع البذور إلى خفض درجة التلون وانتشار البقعة المتكونة بفطر *Botrytis fabae* ، في حين أعطى رش المجموع الخضري تأثيراً أفضل من نقع البذور وكانت معاملة فوسفات البوتاسيوم الثنائية (٢٥ ملليمول) أكثر المعاملات تأثيراً في تثبيط الإصابة بالفطر .

٨. خفضت كل معاملات نقع البذور شدة الإصابة بمرض التبقع الشيكولاتي بدرجة معنوية خلال موسمي زراعة متتالية ، وكانت المعاملات المنفردة حامض

الساليسيليك (١٠ ملليمول) وفوسفات البوتاسيوم الثنائية (٥٠ ملليمول) الأعلى في خفض شدة الإصابة ثم كلوريد الحديدك (٢٠ ملليمول) والإيثيفون (٥٠٠ جزء في المليون) على التوالي .

٩. أدى رش المجموع الخضري للقول البلدي مرتين بعد ٤٥ ، ٥٥ يوماً من الزراعة إلى خفض شدة الإصابة بمرض التبقع الشيكولاتي خلال موسمي الزراعة ، وخفضت معاملات فوسفات البوتاسيوم الثنائية (٥٠ ملليمول) وكلوريد الحديدك (٢٠ ملليمول) شدة الإصابة بمرض التبقع الشيكولاتي بدرجة كبيرة خلال موسم النمو حتى ١٤٠ يوماً من الزراعة بالمقارنة بالنباتات غير المعاملة. وخفضت كل من معاملات حامض الساليسيليك (٢ ملليمول) والإيثيفون (١٠٠ جزء بالمليون) شدة الإصابة بمرض التبقع البني بدرجة كبيرة بالمقارنة بتأثيرها في التركيزات المنخفضة .

١٠. أعطت معاملات نقع البذور بفوسفات البوتاسيوم الثنائية ، كلوريد الحديدك والإيثيفون عند الجرعات العالية أعلى انخفاض (٥٠%) لشدة الإصابة لمرض الصدا في كلا الموسمين ، تلاها معاملة حامض الساليسيليك في حين أعطت معاملة كبريتات الكوبلت تأثيراً طفيفاً على الإصابة بالصدا .

١١. أدى رش المجموع الخضري بمعاملات الإيثيفون (١٠٠ جزء في المليون) وفوسفات البوتاسيوم الثنائية (١٠٠ ملليمول) إلى انخفاض شدة الإصابة بمرض الصدا بنسبة ٦٠% حتى ١٤٠ يوماً من الزراعة ، بينما أظهرت معاملة كلوريد الحديدك (٥٠ ملليمول) درجة متوسطة في انخفاض مرض الصدا (٢٧ - ٣٨%) في حين كانت الجرعات المنخفضة أقل تأثيراً .

١٢. كانت معاملة نقع البذور في فوسفات البوتاسيوم الثنائية (١٠٠ ملليمول) هي الأفضل في خفض شدة الإصابة بمرض تبقع الأوراق الألترناري (٥٢ - ٥٤%) تلاها معاملة حامض الساليسيليك (١٠ ملليمول) في حين أعطت معاملات كلوريد الحديدك أو الإيثيفون عند التركيزات المرتفعة أفضل حماية مقارنة بالتركيزات المنخفضة .

١٣. أدى رش المجموع الخضري للقول البلدي بالإيثيفون (١٠٠ جزء في المليون) وفوسفات البوتاسيوم الثنائية (١٠٠ ملليمول) إلى انخفاض معنوي لمرض تبقع الأوراق الألترناري بنسبة تتراوح من ٣٨ - ٤٠% خلال موسمي الزراعة ، تلاها معاملات كلوريد الحديدك (٥٠ ملليمول) والإيثيفون (٥٠ جزء في المليون) .

١٤. أدى نقع البذور في معاملات فوسفات البوتاسيوم الثنائية وكلوريد الحديد إلى زيادة معنوية في طول النبات ، وكل من عدد الأوراق والأزهار والقرون للنبات وزيادة محصول البذور ووزن المائة بذرة .

١٥. أدى رش المجموع الخضري بفوسفات البوتاسيوم الثنائية أو الإيثيفون إلى زيادة معنوية في طول النبات ، وكل من عدد الأوراق والأزهار للنبات ، في حين أعطت معاملة فوسفات البوتاسيوم الثنائية أعلى زيادة في محصول البذور تلاها معاملة كلوريد الحديد .

١٦. أدى العدوى بفطر *Botrytis fabae* إلى زيادة محتويات الفينول بالمقارنة بالنباتات غير المعداة ، في حين أظهرت معاملات رش المجموع الخضري زيادة في محتويات الفينول بدرجة أكبر عن معاملات نقع البذور ، وأدت معاملات فوسفات البوتاسيوم الثنائية وكلوريد الحديد أو الإيثيفون إلى زيادة كل من الفينولات الكلية والحررة والمرتبطة في النباتات المعداة بالمقارنة بالنباتات السليمة .

١٧. زاد نشاط إنزيم البيروأكسيداز في الأنسجة المصابة بالمقارنة بالأخرى غير المعداة والسليمة ، كما أعطت معاملات فوسفات البوتاسيوم الثنائية وحامض الساليسيليك أعلى زيادة في نشاط إنزيم البيروأكسيداز بالمقارنة بالمعاملات الأخرى . وبصفة عامة أدت معاملات رش المجموع الخضري إلى زيادة كبيرة في نشاط إنزيم البيروأكسيداز بالمقارنة بمعاملة نقع البذور .

١٨. كان نشاط إنزيم بولي فينول أكسيداز أعلى في النباتات المعداة بفطر *Botrytis fabae* بالمقارنة بالنباتات السليمة ، وأعطت معاملات فوسفات البوتاسيوم الثنائية أو حامض الساليسيليك سواء معاملة نقع البذور أو رش المجموع الخضري أعلى زيادة في نشاط إنزيم بولي فينول أكسيداز تلاها معاملات كلوريد الحديد أو الإيثيفون .

١٩. أظهر التحليل البروتيني للنباتات المعاملة والمعداة بالفطر *B.fabae* باستخدام جهاز الفصل الكهربائي على رقائق البولي أكريل أميد وجود حزم بروتينية جديدة مختلفة في بعض المعاملات الكيماوية كاستجابة للإصابة وكان عدد الحزم البروتينية في معاملات رش المجموع الخضري أقل عما هو في معاملات نقع البذور .

٢٠. أظهرت الطرز الحزمية لإنزيم بيروأكسيداز باستخدام جهاز الفصل الكهربائي على رقائق البولي أكريل أميد وجود اختلاف في كل من كثافة وشدة الحزم بالإضافة إلى ظهور حزم جديدة لمشابهات إنزيم بيروأكسيداز وذلك في معاملات فوسفات البوتاسيوم الثنائية أو كلوريد الحديد ، وحامض الساليسيليك كان على حدى سواء نقع البذور أو رش المجموع الخضري .

سادساً : الاتجاهات الحديثة لمكافحة بعض فطريات التربة الممرضة على الفلفل في الأراضي المستصلحة

رسالة مقدمة من الطالبة / عبير المرسي أحمد الحديدي للحصول على درجة دكتور فلسفة في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس تحت إشراف أ.د. مديح محمد علي ، د. أحمد أحمد موسى ، د. أحلام محمود جويلي عام ٢٠٠٣ .

يعتبر محصول الفلفل من محاصيل الخضر الباذنجانية الهامة في مصر والذي يصاب بالعديد من الممرضات الفطرية الكامنة بالتربة والتي تسبب أمراض عفن الجذور والذبول . وتعتبر تلك الأمراض أمراضاً خطيرة حيث تسبب خسائر شديدة في محصول وجودة الفلفل النامي تحت نظم الزراعة المختلفة في جمهورية مصر العربية .

استهدفت هذه الدراسة حصر أمراض عفن الجذور والذبول في بعض مناطق الاستصلاح بجمهورية مصر العربية وتعريف مسبباتها المرضية ، ودراسة بعض الاتجاهات الحديثة لمكافحة تلك الأمراض دون الاعتماد على المبيدات الكيماوية بدرجة أساسية للتقليل من تلوث البيئة والتأثير الضار لاستخدام المبيدات على الإنسان والحيوان .

ويمكن إيجاز النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة في النقاط التالية :

١. أوضحت نتائج الحصر أن أمراض عفن الجذور والذبول كانت أكثر وجوداً في العروة الصيفي عن العروة الصيفي المبكرة في المناطق المستصلحة ، حيث تراوحت نسبة المرض بين ١٢ - ٥٤% وكانت أعلى نسبة إصابة للفلفل بتلك الأعراض بعفن الجذور والذبول بمناطق القصاصين والخطاطبة والتل الكبير وأقلها سجلت بالعريش .

٢. كانت أفضل الفطريات المعزولة من البادرات والنباتات المصابة هي فيوزاريوم أكسيسبورم ، بيثيوم أفانيدرماتم ، ريزوكتونيا سولاني و سكلورشيوم رولفزيي .

٣. أظهر اختبار القدرة المرضية للفطريات المعزولة قدرتها على إحداث موت لبادرات الفلفل وسببت فطريات ريزوكتونيا سولاني وبيثيوم أفانيدرماتم وفيوزاريوم سولاني أعلى نسبة موت بادات وعفن للجذور بينما سببت عزلة رقم ٢ للفطر فيوزاريوم أكسيسبورم أعلى نسبة ذبول على النباتات الكبيرة وذلك بعد ٨ أسابيع من الشتل .

٤. أدت معاملة شتلات الفلفل ببعض المحنات الكيماوية للمقاومة إلى خفض الإصابة بمرض الذبول الفيوزاريومي ، بينما لم تؤثر معنوياً في الإصابة بعفن الجذور .

٥. أدى نقع شتلات الفلفل في محلول تركيزه ٢,٥ ملليمول لحامض السليسيك أو فوق أكسيد الهيدروجين ١,٥% وذلك لمدة ١٠ دقائق قبل الشتل مباشرة إلى خفض الذبول الفيزياريومي بدرجة كبيرة .
٦. أدى رش شتلات الفلفل بمحلول تركيزه ٥٠ ملليمول لفوسفات البوتاسيوم الثنائية وذلك قبل الشتل لمدة ١٢ ساعة إلى خفض الذبول الفيزياريومي بحوالي ٦٥% بالمقارنة بالغير معاملة متبوعاً بمعاملات الإثيريل وحامض السليسيك .
٧. أدى رش نباتات الفلفل بفوسفات البوتاسيوم الثنائية ٥٠ ملليمول إلى زيادة الوزن الغض والجاف للنبات بالإضافة إلى محتوى النبات من الكلوروفيل الكلي وكذلك محصول الثمار تحت ظروف تجارب الأصص .
٨. تم إجراء عد كلي وعزل لبكتريا وفطريات المجال الجذري لستة أنواع نباتية نامية في حقول بمنطقة مريوط بالساحل الشمالي (التابعة لمركز بحوث الصحراء) ، ولقد أظهر العد الكلي للبكتريا أعلى معدل في المجال الجذري للبرسيم الحجازي يتبعه الشعير ثم الذرة ، بينما أظهر العد الكلي للفطريات أعلى معدل في المجال الجذري للخردل ثم الفلفل .
٩. تم الحصول على ٦٥٩ عزلة بكتيرية و ٢٢ عزلة فطرية من المحاصيل المختلفة وذلك في مزارع نقية ، حيث تم اختبارها بالإضافة إلى ٤ عزلات فطرية وبكتيرية ذات قدرة تضادية معروفة معزولة من البيئة المصرية ، وذلك لتأثيرها التضادي تجاه الفطريات الثلاث المسببة لعفن الجذور والذبول في الفلفل . أظهرت ٢٣ عزلة فقط تأثيراً تضادياً سواء بدرجة متوسطة أو كبيرة أو تطفلاً علوياً لميسيليوم أي من تلك الممرضات .
١٠. تم عمل تقييم حيوي لتلك العزلات باستخدام طريقة أطباق التربة حيث أظهرت ٣ عزلات بكتيرية هي : سيدوموناس فلوروسينس (BA1) ، بلكورداريا سيياسيا (K1) والعزلة (MU3) وكذلك العزلات الفطرية ترايكودرما هاريزيانم (Th5) ، والعزلتان (AL25 ، GA7) قدرة على اختزال موت البادرات الناشئ عن الفطريات الثلاثة الممرضة . أدت معاملة بذور الفلفل بعزلة سيدوموناس فلوروسينس (BA1) إلى زيادة الوزن الجاف للبادرات بحوالي ١٤% .
١١. تم انتقاء ٦ عزلات بكتيرية وفطرية مضادة وتقييمها لمقاومة عفن الجذور والذبول في تجارب الأصص حيث كان أكثرها فاعلية سيدوموناس فلوروسينس (BA1) ثم ترايكودرما هاريزيانم (Th5) ، والتي أدت إلى خفض الإصابة بمعدل ٧٥% أو أكثر . كما أدت معاملة الشتلات بأي من هاتين العزلتين إلى زيادة في الوزن الغض والجاف لنباتات الفلفل المعاملة والمزروعة في تربة خالية من الممرض .

١٢. أدى تطبيق استخدام العزلتان سيدوموناس فلوروسينس (BA1) وترايكودرما هاريزيانم (Th5) كمعاملة لشتلات الفلفل قبل الزراعة مباشرة في الحقل إلى اختزال حدوث الإصابة بعفن الجذور والذبول ، وكانت عزلة (Th5) ذات تأثير أكبر في خفض المرض وكذلك في زيادة نمو النبات ومحصول الثمار الناتج .

١٣. أدت معاملة شتلات الفلفل بسيدوموناس فلوروسينس (BA1) وترايكودرما هاريزيانم (Th5) إلى اختزال كثافة أعداد فطريات فيوزاريوم أكسيسبورم وريزوكتونيا سولاني وببثيوم افانيدرماتم بالتربة وذلك بعد ٤٥ يوم من الشتل .

١٤. أدى إضافة بعض المخلفات الجافة لمحاصيل البرسيم الحجازي والكرنب والشلجم والثوم بمعدل ٥ أو ١٠ جرام لكل كيلوجرام تربة بالأصص لتأثيرات متفاوتة في خفض الإصابة . حيث أعطى الثوم والشلجم بمعدل ١٠ جرام لكل كيلوجرام تربة أقل إصابة بعفن الجذور والذبول .

١٥. أدى تطبيق استخدام معاملات التسميد الأخضر بمحاصيل البرسيم الحجازي ، الشلجم والثوم والخردل تحت ظروف الحقل بمنطقة مريوط إلى اختزال نسب الإصابة بالذبول وعفن الجذور وكانت أكثر المعاملات فاعلية هي الشلجم والثوم متبوعة بالخردل .

١٦. أدت معاملة التسميد الأخضر بالبرسيم الحجازي أو الخردل إلى زيادة في الوزن الغض والجاف للنباتات إضافة إلى زيادة محتواها من الكلوروفيل الكلي وكذلك زيادة محصول الثمار بدرجة معنوية بالتربة الغير معدية بالمرضات قياساً بمعاملة المقارنة .

١٧. أدت جميع معاملات التسميد الأخضر إلى زيادة الأعداد الكلية للبكتريا والفطريات والأكتينومييسيتات بالتربة ، كما أدت إلى اختزال كثافة أعداد الفطريات الممرضة فيوزاريوم أكسيسبورم ، وريزوكتونيا سولاني ، وببثيوم افانيدرماتم وذلك بعد ٣٠ يوم من الشتل .

١٨. أظهر التقدير الكيميائي الكمي الأول لنباتات التسميد الأخضر أن البرسيم الحجازي يحتوي على تينينات وريشينات وسابونينات وقلويدات ، بينما الكرنب والثوم والخردل يحتوي كل منهما على تينينات وريشينات وقلويدات . بينما يحتوي الشلجم على تينينات وريشينات وفلافينات وقلويدات .

١٩. أظهرت المستخلصات النباتية تفاوتاً في تأثيرها على نمو الفطريات الثلاثة الممرضة المختبرة معملياً على أطباق الآجار حيث كانت هناك علاقة موجبة بين التأثير التثبيطي لتلك المستخلصات والتركيز المستخدم منها . اختزل المستخلص الكلوروفورمي للنيم والثوم من نمو تلك الممرضات ، بينما أظهر مستخلص الكحول الإيثيلي ٧٠% لنباتات الشلجم والكرنب أعلى تأثير تثبيطي .

سابعاً : المقاومة المستحثة لمرض الذبول في البطيخ المتسبب عن الفطر فيوزاريوم أكسيسبورم نيفيوم

رسالة مقدمة من السيد / فريد عبد الكريم إبراهيم للحصول على درجة الماجستير في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس عام ١٩٩٣ تحت إشراف أ.د. محمد فوزي حجازي ، و أ.د. مديح محمد علي .

يعتبر البطيخ من محاصيل الخضر الهامة في مصر وقد بلغت المساحة المنزرعة عام ١٩٩٢ حوالي ٧٢٤٧٠ فدان أعطت ٧٠٩٢١٠ طن محصول ثمار وتزرع بعض أصناف البطيخ في مساحات مختلفة في الأراضي المستصلحة حديثاً للحصول على البذور المأكولة (بطيخ اللب) . ويصاب البطيخ بالعديد من الأمراض أهمها مرض الذبول الفيوزاريومي الذي يعتبر العامل المحدد للإنتاج في كثير من مناطق الزراعة .

لحد من استخدام المبيدات ومالها من آثار ضارة على الإنسان والبيئة ونظراً لعدم كفاءتها في مقاومة مرض الذبول وعدم وجود أصناف مقاومة في مصر . فقد صمم هذا البحث لمكافحة المرض بإتباع وسيلة الحث على المقاومة في نباتات البطيخ ضد مرض الذبول واختبرت عدة مستحضات بيولوجية وأخرى كيميائية ورد فعل العائل نتيجة استخدام عوامل الحث .

وتتلخص النتائج في الآتي :

١. اختبرت ثلاث فطريات ممرضة لنباتات العائلة القرعية وتصيب الأجزاء الهوائية وهي *Stemphylium sp.* , *Bolrylis cinerea* , *Alternaria alternate* إذ عوملت بذور البطيخ النابتة بمعلق جراثيم الفطريات سابقة الذكر بتركيز ١٠^٦ جرثومة / مل لمدة ٢٤ ساعة ثم الزراعة . وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة الفطر *Stemphylium sp.* .
٢. اختبرت ثلاثة أنماط غير ممرضة من *Fusarium oxysporum* وهم F.O cucmerinum , F.O. melonis , F.O. niveum race O وقد وجد أنه مع الصنف جيزة ١ كانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة F.O. cucumerinum , F.O. nlveum race O إذ تم اختزال المرض بمقدار ٦٩ و ٦٤% على الترتيب أما مع الصنف جورما فكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة F.O. melonis , F.O. cucmerinum إذ اختزلنا المرض بمقدار ٧٣% على الأقل .

٣. اختبرت ثلاث تركيزات من معلق الجراثيم ١٠^٥ و ١٠^٦ و ١٠^٧ / مل وثلاث فترات زمنية بين الحث واختبار المناعة وهي ٢٤ و ٤٨ و ٧٢ ساعة وأثبتت

التحليل الاحصائى أنه لا فرق معنوى بين التركيزات الثلاثة وكذلك بين الفترات المختلفة فى تأثيرها على المقاومة المستحثة فى البطيخ .

٤. اختبرت ٤ تركيزات من مادة الايثيفون وهم ٤٠٠ و ٦٠٠ و ٨٠٠ و ١٠٠٠ جزء / المليون كنقع للبذور لمدة ٢٤ ساعة وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها مع التركيزات ٤٠٠ و ٦٠٠ و ٨٠٠ جزء / المليون بالنسبة للصنف جيزة ١ حيث أدت انخفاض نسبة حدوث المرض بمقدار ٦٨,٨% و ٧٧,٨% و ٨٠% على الترتيب أما بالنسبة للصنف جورما فكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة التركيز ٨٠٠ جزء / المليون يليه التركيز ٦٠٠ جزء / المليون حيث اختزلا المرض بمقدار ٧٥% فى المتوسط .

٥. اختبرت ثلاث تركيزات من الكوبلت وهى ٠,٢٥ و ٠,٥٠ و ١,٠٠ جزء / المليون وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة التركيز ٠,٥٠ جزء / المليون لكلا الصنفين وأثبت التحليل الاحصائى أن استجابة الصنف جيزة ١ بالنسبة للمقاومة بواسطة الكوبلت تفوق بكثير استجابة الصنف جورما إذ اختزل المرض مع الصنف جيزة ١ بمقدار ٧٨% بالمقارنة بـ ٥٠% للصنف جورما .

٦. بعد نهاية تجارب الأصص تم انتخاب أفضل المعاملات حثا على المقاومة وتقييم تأثيرها على نسبة حدوث المرض وطول الجذر والساق والوزن الرطب والجاف للساق والجذر والصبغات النباتية وأثبت التحليل الاحصائى ما يلى :

أ - لا يوجد فرق معنوى بين المعاملات المختارة فى تأثيرها على نسبة حدوث المرض .

ب- لا يوجد أى تأثير سلبى على جميع الصفات الخضرية من المعاملات المنتخبة .

ج - أعطت المعاملات الكيماوية الايثيفون ٦٠٠ جزء / المليون والكوبلت ٠,٥٠ جزء / المليون تأثيرات إيجابية بالنسبة لطول الساق بالمقارنة بالنباتات الغير معده .

د - الايثيفون ٦٠٠ ، ٨٠٠ جزء / المليون والكوبلت ٠,٥٠ جزء فى المليون F.O. cucumerinum أعطت قراءات إيجابية بالنسبة للوزن الرطب للمجموع الخضرى بالمقارنة بالنباتات المنزرعة فى تربة غير معده .

هـ - بالنسبة للصبغات النباتية لم تسجل أى تأثيرات سلبية من معاملات الحث المنتجة بينما سجلت المعاملة F.O. niveum race O والايثيفون ٦٠٠ ، ٨٠٠ جزء / المليون تأثيرات إيجابية بالنسبة للكلوروفيل (A) بالمقارنة بالنباتات المنزرعة فى تربة غير معده .

٧. عند دراسة رد الفعل المصاحب للمقاومة المستحثة تم تقدير نشاط إنزيم الشنتنبر قبل العدوى وبعد العدوى بـ ٢٤ و ٤٨ و ٧٢ ساعة .

وأوضحت النتائج ما يلي :

أ - سجلت كل معاملات الحث زيادة معنوية في نشاط إنزيم الشنتنبر بالمقارنة بالنباتات غير المعاملة وذلك قبل العدوى وكانت المعاملة الايثفون ٨٠٠ جزء / المليون و F.O. niveum race O أكثر تحفيزاً على زيادة النشاط الانزيمى تليها المعاملة F.O. cucumerinum , Stemphylium sp .

ب- بعد العدوى زاد النشاط الانزيمى فى كل معاملات الحث الكيماوى زيادة معنوية وبعد ٧٢ ساعة كان النشاط الانزيمى فى كل معاملات الحث أعلى منه فى الغير معاملة وقد سجل أكثر نشاط مع الايثفون ٨٠٠ جزء / المليون يليه F.O. cucumerinum والكوبلست و F.O. niveum race O وأقل نشاط مع Stemphylium sp .

٨. تم انتخاب ٦ معاملات من تجارب الأصص لتطبيقها فى قرية العباسية محافظة كفر الشيخ لمدة موسمين ١٩٩١ و ١٩٩٢ مع الصنف جيزة ١ وهما الايثفون ٦٠٠ و ٨٠٠ جزء / المليون والكوبلست ٠,٥٠ جزء / المليون و F.O. niveum race O و F.O. cucumerinum و Stemphylium وفى الموسم الأخير تم إضافة البنليت (Benlate) كنفع للبذور بالتركيز الموصى به للمقارنة وقد تماثلت النتائج فى الموسمين وهى على النحو التالى :

أ - بالنسبة لحدوث المرض كان أفضل المعاملات المتحصل عليها بواسطة ايثفون ٦٠٠ و ٨٠٠ جزء / المليون والكوبلست و F.O. cucumerinum ٠,٥٠ جزء / المليون . تماثلت نتائج Stemphylium sp مع نتائج المعاملة بالبنليت .

ب- بالنسبة للقراءات الخضرية سجلت المعاملات الكيماوية بالإضافة إلى المعاملة F.O. cucumerinum زيادة معنوية فى طول المداد وكذلك عدد الأوراق بالنسبة للمداد وتلاها المعاملة F.O. niveum race O بينما كانت المعاملة Stemphylium sp أقل المعاملات تأثيراً إذ تساوت فى درجة المعنوية مع البنليت .

ج - بالنسبة لمحصول الثمار فقدرت فقط فى موسم ١٩٩٢ واتضح منها أن معاملات الحث الكيماوية بالإضافة إلى F.O. cucumerinum أعطت زيادة ملحوظة فى عدد الثمار للنبات وكذلك محصول الثمار للنبات وعلى نفس المنوال سجلت تلك المعاملات أكبر أحجام للثمار بالمقارنة بباقي المعاملات .

٩. بالنسبة للصنف جورما فقط تم تطبيق نفس معاملات الصنف جيزة ١ باستثناء المعاملة F.O melonis بدل المعاملة F.O. niveum race O فى قرية الحسينى بمنطقة النوبارية محافظة البحيرة فى تجربتين اعتمدت الأولى على معاملات الحث فى مرحلة البذرة النابتة بينما فى الأخرى أجريت نفس المعاملة بالإضافة إلى معاملة تنشيطية لعملية الحث تمت بإجراء الرش بالكوبلت ٠,٢٥ جزء / المليون .

وتتلخص النتائج فى التجربتين فيما يلى :

أ - لم تحدث المعاملة بالكوبلت رشاً أى تأثير إضافى سواء فى اختزال نسبة الإصابة بالمرض أو فى كمية المحصول .

ب- المعاملات F.O. cucumerinum والايثفون ٦٠٠ ، ٨٠٠ جزء / المليون أكثر المعاملات كفاءة فى اختزال المرض بينما كانت المعاملات كوبلت ٠,٥٠ جزء / المليون و F.O. melonis , Stemphylium sp لا يوجد فرق بينها وبين النيليت .

ج - بالنسبة للقراءات الخضرية سجلت معاملات الحث الكيماوية زيادة معنوية فى طول المداد وعدد الأوراق / المداد بالمقارنة بالنباتات الغير معاملة وسجلت أيضاً المعاملة F.O cucumerinum , F.O. melonis زيادة فى طول المداد وعدد الأوراق / المداد ولكنه أقل من سابقهم .

د - بالنسبة لمحصول البذور فقد أدت معاملات الحث الكيماوى بالإضافة إلى F.Ocucumerinum زيادة فى عدد الثمار للنبات وكذلك محصول الفدان من البذور . من ناحية أخرى تماثلت معاملتى F.O melonis Stemphylium sp مع تأثير المعاملة بالنيليت . وقد أدت معاملات الحث الكيماوية إلى زيادة امتلاء البذور كما أتضح ذلك من وزن ١٠٠ بذرة بمقارنتها بباقى المعاملات .

١٠. أدت معاملة شتلات الفلفل ببعض المحنات الكيماوية للمقاومة إلى خفض الإصابة بمرض الذبول الفيوزاريومى ، بينما لم تؤثر معنوياً فى الإصابة بعفن الجذور .

١١. أدى نقع شتلات الفلفل فى محلول تركيز ٢,٥ ملليمول لحامض السلسليك أو فوق أكسيد الهيدروجين ٠,٥% وذلك لمدة ١٠ دقائق قبل الشتل مباشرة إلى خفض الذبول الفيوزاريومى بدرجة كبيرة .

١٢. أدى رش شتلات الفلفل بمحلول تركيزه ٥٠ ملليمول لفوسفات البوتاسيوم الثنائية وذلك قبل الشتل لمدة ١٢ ساعة إلى خفض الذبول الفيوزاريومى بحوالى ٦٥% بالمقارنة بالغير معاملة متبوعاً بمعاملات الاثيريل وحامض السلسليك .

١٣. أدى رش نباتات الفلفل بفوسفات البوتاسيوم الثنائية ٥٠ ملليمول إلى زيادة الوزن الغض والجاف للنبات بالإضافة إلى محتوى النبات من الكلوروفيل الكلى وكذلك محصول الثمار تحت ظروف تجارب الأصص .

١٤. تم اجراء عدد كلى وعزل لبكتريا وفطريات المجال الجذرى لستة أنواع نباتية نامية فى حقول بمنطقة مريوط بالساحل الشمالى (التابعة لمركز بحوث الصحراء) ، ولقد أظهر العد الكلى للبكتريا أعلى معدل فى المجال الجذرى للبرسيم الحجازى يتبعه الشعير ثم الذرة ، بينما أظهر العدد الكلى للفطريات أعلى معدل فى المجال الجذرى للخردل ثم الفلفل .

١٥. تم الحصول على ٦٩ عزلة بكتيرية و ٢٢ عزلة فطرية من المحاصيل المختلفة وذلك فى مزارع نقية ، حيث تم اختبارها بالإضافة إلى ٤ عزلات فطرية وبكتيرية ذات قدرة تضادية معروفة معزولة من البيئة المصرية ، وذلك لتأثيرها التضادى تجاه الفطريات الثلاث المسببة لعفن الجذور والذبول فى الفلفل . أظهرت ٢٣ عزلة فقط تأثيراً تضادياً سواء بدرجة متوسطة أو كبيرة أو تطفلاً علوياً لميسيليوم أى من تلك الممرضات .

١٦. تم عمل تقييم حيوى لتلك العزلات باستخدام طريقة أطباق التربة حيث أظهرت ٣ عزلات بكتيرية هى : سيدوموناس فلوروسينس (BAI) ، بلكورداريا سيباسيا (KI) والعزلة (MU3) وكذلك العزلات الفطرية ترايكودرما هاريزيام (TH5) والعزلتان (AL25 , GA7) قدرة على اختزال موت البادرات الناشء عن الفطريات الثلاثة الممرضة . أدت معاملة بذور الفلفل بعزلة سيدوموناس فلوروسينس (BA 1) إلى زيادة الوزن الجاف للبادرات بحوالى ١٤ % .

١٧. تم انتقاء ٦ عزلات بكتيرية وفطرية مضادة وتقييمها لمقاومة عفن الجذور والذبول فى تجارب الأصص حيث كان أكثرها فاعلية سيدوموناس فلوروسينس (BA1) تم ترايكودرما هاريزيام (TH5) والتي أدت إلى خفض الإصابة بمعدل ٧٥ % أو أكثر . كما أدت معاملة الشتلات بأى من هاتين العزلتين إلى زيادة فى الوزن الغض والجاف لنباتات الفلفل المعاملة والمزروعة فى تربة خالية من الممرض .

١٨. أدى تطبيق استخدام العزلتان سيدوموناس فلوروسينس (BA1) وترايكودرما هاريزيام (TH5) كمعاملة لشتلات الفلفل قبل الزراعة مباشرة فى الحقل إلى اختزال حدوث الإصابة بعفن الجذور والذبول ، وكانت عزلة (TH5) ذات تأثير أكثر فى خفض المرض وكذلك فى زيادة نمو النبات ومحصول الثمار الناتج .

١٩. أدت معاملة شتلات الفلفل بـ سيدوموناس فلوروسينس (BA1) وترايكودرما هاريزيانم (TH5) إلى اختزال كثافة أعداد فطريات فيوزاريوم اكسيسبورم ريزوكتونيا سولانى و بيثيوم افانيدر ماتم بالتربة وذلك بعد ٤٥ يوم من الشتل .

٢٠. أدى إضافة بعض المخلفات الجافة لمحاصيل البرسيم الحجازى والكرنب والشلجم والثوم بمعدل ٥ أو ١٠ جرام لكل كيلوجرام تربة بالأصص لتأثيرات متفاوتة فى خفض الإصابة حيث أعطى الثوم والشلجم بمعدل ١٠ جرام لكل كيلوجرام تربة أقل إصابة بعفن الجذور والذبول .

٢١. أدى تطبيق استخدام معاملات التسميد الأخضر بمحاصيل البرسيم الحجازى ، الشلجم والثوم والخردل تحت ظروف الحقل بمنطقة مريوط إلى اختزال نسب الإصابة بالذبول وعفن الجذور وكانت أكثر المعاملات فاعلية هى الشلجم والثوم متبوعة بالخردل .

٢٢. أدت معاملة التسميد الأخضر بالبرسيم الحجازى أو الخردل إلى زيادة فى الوزن الغض والجاف للنباتات إضافة إلى زيادة محتواها من الكلوروفيل الكلى وكذلك زيادة محصول الثمار بدرجة معنوية بالتربة الغير معدية بالمرضات قياساً بمعاملة المقارنة .

٢٣. أدت جميع معاملات التسميد الأخضر إلى زيادة الأعداد الكلية للبكتريا والفطريات والأكتينومييسيتات بالتربة ، كما أدت إلى اختزال كثافة أعداد الفطريات الممرضة فيوزاريوم اكسيسبورم ، ريزوكتونيا سولانى ، وبيثيوم افانيدر ماتم وذلك بعد ٣٠ يوم من الشتل .

٢٤. أظهر التقدير الكيمائى الكمى الأولى لنباتات التسميد الأخضر أن البرسيم الحجازى يحتوى على تينينات ورشينات وسابونينات وقلويدات ، بينما الكرنب والثوم والخردل يحتوى كل منهما على تينينات ورشينات والقلويدات . بينما يحتوى الشلجم على تينينات ورشينات وفلافينات وقلويدات .

٢٥. أظهرت المستخلصات النباتية تفاوتاً فى تأثيرها على نمو الفطريات الثلاثة الممرضة المختبرة معملياً على أطباق الآجار حيث كانت هناك علاقة موجبة بين التأثير التثبيطى لتلك المستخلصات والتركيز المستخدم منها . اختزل المستخلص الكلوروفورمى للنيم والثوم من نمو تلك الممرضات ، بينما أظهر مستخلص الكحول الايثيلي ٧٠% لنباتات الشلجم والكرنب أعلى تأثير تثبيطى .

ثامناً : دراسات على آليات المقاومة المستحثة لمرض الذبول الفيوزاريومي من البطيخ

رسالة مقدمة من السيد / عماد الدين على مصطفى جادو للحصول على درجة الماجستير فى العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس عام ١٩٩٧ تحت إشراف أ.د. مصطفى حلمى مصطفى و أ.د. درية إبراهيم حرفوش ، د. أحمد أحمد موسى .

يعتبر مرض ذبول البطيخ المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp. niveum* واحد من أخطر الأمراض التى تهاجم نباتات البطيخ ويصعب مقاومتها تحت ظروف الحقل . أجريت هذه الدراسة بغرض اختبار وانتخاب بعض العوامل التى تؤدي لجعل النبات أكثر مقاومة لمسبب المرض وكذلك دراسة آلية فعل هذه العوامل لمقاومة المرض . ويمكن إيجاز النتائج المتحصل عليها فى النقاط التالية :

١- أمكن عزل الفطر *Fusarium oxysporum* من العينات التى ظهرت عليها أعراض المرض ، وطبقاً للصفات الشكلية والمدى العوائلى للفطر ثبت أنه *Fusarium oxysporum f.sp. niveum* .

٢- تحت ظروف الصوبة ، وفى وجود المسبب المرضى اختبرت عدة عوامل حية مثل الفطرين *Botrytis cinerea* , *Stemphylium botryosum* والبكتريا (*Pseudomonas fluorescens*) وأخرى غير حية (الأثيفون ، حمض الساليسيليك ، الفانيلين ، فوق أكسيد الهيدروجين ، أيونات الكوبلت على صورة كبريتات الكوبلت) كما تم دراسة تأثير هذه المعاملات على الخواص الشكلية للنباتات وقد اختبرت جميعها عن طريقة معاملة البذور المستتبة بها .

٣- ثبت أن الفطرين المختبرين لم يكن لهما أثر فى مقاومة المرض .

٤- مادتي الأثيفون والفانيلين قد استبعدا من الدراسة اللاحقة وذلك لأن الأثيفون أثر سلباً على البادرات أما الفانيلين فلم يعطى نتائج مرضية فى المقاومة بالإضافة لأثره السيئ على نمو الجذور المعاملة .

٥- أظهر حمض الساليسيليك وفوق أكسيد الهيدروجين والكوبلت أثر فعال فى إحداث المقاومة ضد مرض الذبول الفيوزاريومي وذلك فى أربعة تجارب منفصلة . كما أبدت البكتريا *P. fluorescens* فاعلية فى مقاومة المرض لم تقل عن المعاملة بالعوامل الغير حية .

٦- يوضع البذور النابتة المعاملة بأى من حمض الساليسيليك أو فوق الهيدروجين أو الكوبلت على الفطر النامى على وسط آجار الزابك ثبت أن المعاملة أدت لجعل جذور النباتات مقاومة لأثر الفطر المحلل بالمقارنة بالبذور غير المعاملة والتى شوهدت جذورها تماماً فى مدى ٢٤ ساعة مما يؤكد على الدور الذى يمكن أن تلعبه هذه المواد فى التأثير على بناء الجدار فى خلايا الجذور .

٧- درست الخواص الشكلية للبادرات النامية تحت تأثير هذه المواد وقد لوحظ سرعة نمو البادرات وسرعة ظهور الأوراق الفلقية ونمو السويقة الجنينية السفلى بالمقارنة بالغير معاملة حيث لم يظهر فيها سوى الجذر . وقد اختلف المظهر الشكلى للجذور فى حالة المعاملة حيث ظهرت مجموعة من الجذور الجانبية على طول محور الجذر ولم تشاهد مثل هذه الجذور فى حالة المقارنة.

٨- يعمل قطاعات فى قاعدة السويقة الجنينية السفلى وفحصها بالميكروسكوب الضوئى ، ثبت أن المعاملة بأى من حمض الساليسيليك أو فوق أكسيد الهيدروجين والكوبلت سببت الكثير من التأثيرات على التركيب التشريحي . فقد زاد سمك طبقة القشرة مع زيادة عدد أوعية الخشب وأقطارها إلا أن اللافت للنظر هو النشاط العالى لخلايا الكامبيوم ما بين الأوعية ، حيث أدى تنشيط أنقسامه بسبب المعاملة . وليس بسبب تعرض النبات للفطر بظهور أربعة صفوف من الخلايا ، وقد لوحظ ظهور تركيب مغلف الجدار فى أحد القطاعات.

٩- باستخدام الميكروسكوب الالكترونى لفحص القطاعات فائقة الدقة من قاعدة السويقة أن التفاعلات الرئيسية للمقاومة لم تظهر إلا فى حالة العدوى بالفطر بالمقارنة بغير المعاملة . لوحظ زيادة كبيرة فى ترسيب مركبات غير عادية فى أماكن تواجد الفطر ومناطق مثل منطقة الأبوبلاست . كما أن ترسيب المركبات الداكنة الكترونياً فى هذه المواقع يوضح أن هذه المواد تعمل على الحد من نمو الفطر داخل النسيج ويعتقد أن هذه المواد هى مواد ذات طبيعة فينولينية أو نواتج تأكسدها (الكيتونات) .

١٠- المواد اللويفية والكروية التى لوحظت بكثافة حول الفطر وكانت دائماً مصاحبة للتغيرات الشكلية التى تحدث للفطر فى داخل الأنسجة وعلى الأخص تحليل جدار الفطر .

١١- قدر نشاط الإنزيمات المؤكسدة فى مستخلصات النباتات تحت تأثير المعاملات الطردية للمقاومة . وقد لوحظ الاختفاء التام لنشاط كل من إنزيمى البولى فينول أوكسيديز والكتاليز وكان إنزيم بيروكسيديز هو الأكثر فاعلية ونشاطاً .

١٢- وجد أن نشاط البيروكسيديز كان عالياً فى النباتات المقاومة تحت تأثير المعاملة باستثناء المقاومة فى حالة المعاملة بالبكتيريا .

١٣- درس النشاط الأيزوزيمى لإنزيم البيروكسيديز باستخدام طريق الفصل الكهربائى مزدوج الاتجاه . وقد وجد خمسة مشابهات إنزيمية فى مستخلص بادرات البطيخ كما لم يلاحظ وجود أى مشابهات إضافية فى حالة النباتات المقاومة . كانت كثافة الحزم فى حالة النباتات الذابلة أكثر وضوحاً بالمقارنة بالمقاومة فى حالة المعاملة بالبكتيريا .

١٤- بدراسة النظام البروتينى الذائب باستخدام طريقة الفصل الكهربائى على شرائح الأكريلاميد وجد أن المعاملة بكبريتات الكولت أدت إلى زيادة عدد حزم البروتين الذائب بالمقارنة بغير المعاملة تلتها المعاملة بحمض الساليسليك . ظهر ثلاثة حزم بروتينية ذات الأوزان الجزيئية ٦٧,٥ ، ٦٩ ، ٧٠,٥ كيلو دالتون كعلامات لنباتات البطيخ وقد أدت المعاملة بالعوامل المحدثه للمقاومة لحدوث تغيرات كبيرة للنظام البروتينى بغض النظر عن أنها حقنت بالفطر أو لم تحقق كما لم يتضح وجود أى حزم خاصة بحدوث المقاومة تحت أثر المعاملات .

تاسعاً : الحث على المقاومة ضد بعض الأمراض التى تصيب نباتات الخيار المنزرعة تحت ظروف الصوب

رسالة مقدمة السيد / فريد عبد الكريم إبراهيم للحصول على درجة دكتوراة فى العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس عام ١٩٩٨ تحت إشراف أ.د. ولى الدين عاشور ، أ.د. مديح محمد على ، أ.د. محمد محمد محمد دياب.

يعتبر الخيار من أهم محاصيل الخضر التى تزرع فى مصر وتبلغ المساحة المنزرعة ٤٣٧٠٤ فدان تعطى ٣٢٨٢٢٨ طن من الثمار . ويزرع تحت الصوب البلاستيكية ٤٠٠٠ فدان . يصاب الخيار بالعديد من الأمراض أهمها البياض الزغبي والبياض الدقيق وأعفان الجذور والذبول . تعتبر استخدام المبيدات الكيماوية هى الوسيلة الأساسية فى مكافحة الأمراض داخل الصوب وللد من استخدام المبيدات داخل الصوب لما لها من آثار ضارة على صحة الإنسان والبيئة فقد صمم هذا البحث لمكافحة أهم الأمراض المنتشرة على الخيار باستخدام وسيلة للحث على المقاومة .

فقد تم اختبار عدد من المستحضرات البيولوجية والكيماوية فى تجارب الأصص وذلك بتقييم تأثيرها على مرض البياض الزغبي وذلك بإجراء المعاملة كنقع للبذور أو رشاً على المجموع الخضرى فى مرحلة أول ورقة حقيقية وكذلك رد فعل العائل نتيجة استخدام عوامل الحث المختلفة .

وتتلخص النتائج فى الآتى :

- ١- اختبرت ثلاثة فطريات هوائية معزولة من المجموع الخضرى للخيار ممرضة أو غير ممرضة للعائلة القرعية وهى *Alternaria alternate* و *Stemphylium botryosum* , *Curvularia sp* كمعاملة بذرة أو رشاً على المجموع الخضرى فى مرحلة الورقة الحقيقية الأولى وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة الفطر *S. botryosum* , *A. alternate* .

- ٢- اختبرت اثنان من الأنماط غير المتخصصة على الخيار من *Fusarium oxysporum* و *F.O. melonis* , *F.O. niveum* وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة الفطر *F.O. niveum* .
- ٣- اختبرت ثلاثة تركيزات من مادة الأثيفون كنقع للبذور وهى ٦٠٠ ، ٤٠٠ ، ٨٠٠ جزء / المليون وثلاث أخرى كرش على المجموع الخضرى فى مرحلة أول ورقة حقيقية وهى ٣٠٠ ، ٤٠٠ ، ٥٠٠ جزء / المليون وأوضحت النتائج أن معاملة الرش على المجموع الخضرى أعطت أفضل النتائج حيث اختزلت حدوث المرض بواقع ٦٥% على الأقل .
- ٤- اختبرت ثلاث تركيزات من الكوبالت وهى ٠,٢٥ و ٠,٥٠ و ١,٠٠ جزء / المليون كأيون كوبالت كنقع للبذور أو رشاً على المجموع الخضرى وأوضحت النتائج أن التركيز ٠,٥٠ جزء / المليون كان أفضل المعاملات اختزالاً للمرض حيث اختزل نسبة حدوث المرض بواقع ٧٠% على الأقل .
- ٥- اختبرت ثلاث تركيزات من حمض الساليسيليك وهى ٢,٥ ، ٥,٠ ، ٧,٥ ملليمول كنقع للبذور أو رشاً على المجموع الخضرى وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة ٥,٠٠ ملليمول كنقع للبذور أو رشاً على المجموع الخضرى و ٧,٥ ملليمول كرش على المجموع الخضرى حيث اختزلت نسبة حدوث المرض بـ ٦٤% على الأقل .
- ٦- اختبرت ثلاثة تركيزات من حمض اسيتايل ساليسيليك كنقع للبذور وهى ٥ ، ١٠ ، ١٥ ملليمول وثلاث أخرى كرش على المجموع الخضرى وهى ٢,٥ ، ٥ ، ٧,٥ ملليمول وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة التركيز ٢,٥ ، ٥,٠ ملليمول رشاً على المجموع الخضرى و ١٥ ملليمول كنقع للبذور حيث اختزلت المرض بواقع ٧٣% على الأقل .
- ٧- اختبرت ثلاث تركيزات من فوسفات البوتاسيوم ثنائية القاعدية رشاً على المجموع الخضرى وهى ٥٠ ، ١٠٠ ، ١٥٠ ملليمول وكانت أفضل المعاملات هى ٥٠ ، ١٠٠ ملليمول حيث اختزلت المرض بنسبة ٧٤% على الأقل .
- ٨- اختبرت أفضل المعاملات المنتخبة على تجرثم الفطر *P.cubensis* وأوضحت النتائج أن هناك تأثير متوازى بين انخفاض نسبة المرض وتجرثم الفطر *P.cubensis* وكانت المعاملات الفوسفات ١٠٠ ملليمول وحمض اسيتايل ساليسيليك أسد وحمض الساليسيليك ٥,٠ ملليمول الأكثر تأثيراً فى تقليل عدد الجراثيم / سم ٢ من الجزء المصاب .

٩- اختبرت تأثير المعاملة المزدوجة بكل من أفضل معاملات البذرة (إيثفون ٤٠٠ ، ٨٠٠ جزء / المليون) مع أفضل معاملات الرش على المجموع الخضري (حمض اسيتايل ساليسيلك أسد ٢,٥ ، ٥ ملليمول) وأوضحت النتائج أنه لا يوجد تأثير إيجابي أو سلبي لاستخدام المعاملتين معاً بالمقارنة بكل معاملة على حدة.

١٠- اختبرت ٤ أصناف من الخيار السائد زراعتها تحت ظروف الصوب لدراسة مدى استجابتها للحث الكيماوى بالأثيفون والفوسفات وحمض اسيتايل ساليسيلك (أفضل المعاملات تحت ظروف الصوب التجارية) وأوضحت النتائج ما يلي :
: اختلفت الأصناف المختبرة في مدى استجابتها للحث على المقاومة حيث كان الصنف Effdal , Petostar أكثر بينما كان الصنف Rawa , Primo أقل استجابة .

١١- اختبرت أفضل المعاملات اختزالاً للبياض الزغبى وهى حمض اسيتايل ساليسيلك ٥ ملليمول وحمض ساليسيلك ٥ ملليمول والفوسفات ١٠٠ ملليمول والأثيفون ٣٠٠ جزء / المليون والكوبلت ٠,٥ جزء / المليون و F.O. niveum في دراسة تأثيرها على مرض الذبول الفيوزاريومى وأوضحت النتائج ما يلي : جميع معاملات الحث الكيماوى أدت إلى اختزال نسبة حدوث مرض الذبول بحوالى ٧٥% بالمقارنة بالغير معاملة .

١٢- عند دراسة رد فعل العائل نتيجة الحث على المقاومة تم تقدير إنزيمات البيروكسيداز والكيتيز والجلوكانيز قبل العدوى وبعد العدوى بـ ٢٤ ، ٤٨ ، ٩٦ ، ١٤٤ ساعة وكذلك تم تقدير اللجنين بعد العدوى بـ ١٠ أيام وأوضحت النتائج ما يلي :

أ- سجلت كل معاملات الحث زيادة معنوية في نشاط الإنزيمات الثلاثة قبل العدوى وبعد العدوى سجلت معظم المعاملات زيادة إضافية في النشاط مع الإنزيمين بيروكسيداز والجلوكاتيز واستمرت الزيادة إلى ١٤٤ ساعة بعد العدوى وكانت المعاملات حمض الساليسيلك واسيتايل ساليسيلك والفوسفات والأثيفون أفضل المعاملات تحفيزاً في نشاط الإنزيمات الثلاثة قبل العدوى وبعد العدوى بالمسبب المرض .

ب- سجلت كل معاملات الحث المختلفة زيادة معنوية في اللجنين الكلى مقارنة بالغير معاملة وكانت أكثر المعاملات تأثيراً على زيادة المحتوى من اللجنين هى حمض اسيتايل ساليسيلك وحمض الساليسيلك والفوسفات .

١٣- تم انتخاب أفضل المعاملات فى تجارب الأصص (معاملة بذرة أو معاملة مجموع خضرى) لتطبيقها على نطاق تجارى فى صوب وزارة الزراعة بمنطقة جزيرة الذهب فى أربع تجارب فى الفترة من ١٩٤٤ - ١٩٩٦ لاختيار أفضل المعاملات اختزالاً للأمراض وزيادة فى كمية المحصول وأسفرت عن النتائج التالية : أثبتت معاملة المجموع الخضرى والمنشطة بمعاملة الرش التنشيطى كفاءة عالية فى اختزال الأمراض وزيادة كمية المحصول مع المعاملات حمض اسيتايل ساليسيلك ٥ ملليمول والأثيفون ٣٠٠ جزء / المليون وفوسفات البوتاسيوم ١٠٠ ملليمول حيث أدت إلى اختزال نسبة حدوث مرض البياض الزغبي بنسب تتراوح من ٩٢ إلى ٦٤% مقارنة بالغير معاملة واختزال مرض البياض الدقيقى بنسبة تتراوح من ١٠٠% إلى ١٠٠% واختزال مرض تعقد الجذور النيماتودى بنسب تتراوح من ١٠٠% إلى ٤٥% وأدت تلك المعاملات إلى زيادة كمية المحصول بمقدار يتراوح من ١٧٨% إلى ١٤٠ بالمقارنة بالغير معاملة ومن ١٣٤% إلى ١١٤% بالمقارنة بمعاملة المبيد .

١٤- بناءً على ما تقدم فقد تم اختيار معاملات حمض اسيتايل ساليسيلك ٥ ملليمول والأثيفون ٣٠٠ جزء / المليون وفوسفات البوتاسيوم ١٠٠ ملليمول وتم تطبيق كل مادة فى صوبة تجارية مستقلة ومقارنتها بالمعاملات التجارية المعتادة (برامج الرش بالمبيدات) الخاص بوزارة الزراعة وتم تقدير أمراض الذبول الفيوزاريومى وأعفان الجذور والبياض الدقيقى وكمية المحصول . وكانت النتائج على النحو التالى : سجلت كل معاملات الحث المختلفة اختزالاً فى نسبة حدوث مرض الذبول الفيوزاريومى يقدر بحوالى ٧٧% بالمقارنة بالمعاملة الضابطة واختزالاً فى نسبة حدوث مرض البياض الدقيقى قدره ٨٠% على الأقل بالمقارنة بالمعاملة الضابطة . فى حين لم تسبب إلا معاملة الفوسفات اختزالاً معنوياً فى مرض أعفان الجذور . ومن ناحية أخرى سجلت المعاملات زيادة فى كمية المحصول تقدر بحوالى ٦٠ إلى ٢٠% مقارنة بالمعاملة الضابطة .

عاشراً : دراسة فاعلية المستخلصات الطبيعية والبيولوجية فى تنشيط ظاهرة
المقاومة الجهازية المكتسبة فى العوائل النباتية ضمن إطار مكافحة
المتكاملة للآفات

مشروع ممول من أكاديمية البحث العلمى والتكنولوجيا فى الخطة الخمسية ٢٠٠٢ -
٢٠٠٧ للباحث الرئيسى للمشروع أ.د. مصطفى حلمى مصطفى - أستاذ أمراض النبات
- كلية الزراعة - جامعة عين شمس .

١- أعضاء الفريق البحثى		
أ.د. مصطفى حلمى مصطفى	باحث رئيسى	فسيولوجيا المقاومة للأمراض النباتية
أ.د. فوزى مرسى أبو العباس	باحث مناوب	أمراض فيروسية
أ.د. ناجى ياسين عبد الغفار		أمراض بكتيرية
أ.د. محمد سالم عبد الواحد		وقاية نبات
د. عماد الدين على مصطفى جادو		أمراض فطرية
د. حمدى محمد السعيد		وقاية نبات
د. أشرف بكرى عبد الرازق		وراثة وتكنولوجيا حيوية
أعضاء الفريق البحثى من الهيئة المعاونة		
السيدة / كريمة جابر حلمى	مدرس مساعد	أمراض فطرية
السيدة / رانيا صلاح الدين رشوان	مدرس مساعد	حشرات اقتصادية
السيدة / عفاف زين العابدين	مدرس مساعد	أمراض نبات بكتيرية
السيد / محمد أحمد محمد جابر	معيد	أمراض نبات بكتيرية

٢- المركبات المستخدمة فى الدراسة

١- حمض الايثايل ساليلىك ٠,١٢٥ مل / لتر .

٢- حمض الجاسمونيك ٠,١٢٥ مل / لتر .

٣- المستخلص المائى لشماريخ المانجو المشوكة (٧٥ جم / لتر) .

٤- محلول لبن جوز الهند ٢% .

٥- محلول الاجريسبون ١ مل / لتر .

٦- محلول السنكو سين ١ مل / لتر .

٣- إنجازات المشروع خلال الفترات السابقة

٣-١- إنجازات المشروع خلال الفترة ١٦ / ٢ / ٢٠٠٤ إلى ١٦ / ٨ / ٢٠٠٤

الفترة الأولى : حصر أهم الأمراض الفطرية التى تصيب البطاطس والطماطم

أثبت الحصر انتشار مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس والمتسبب عن *Phytophthora infestans* وذلك فى محافظات الغربية والدقهلية والشرقية والقليوبية وتم تنمية الكائن المسبب للمرض ودرست خواص المزرعة .

أثبت الحصر على الطماطم أن مرض عفن الجذور والتاج الفيوزارى المتسبب عن الفطر *Fusarium oxysporum f.sp. radicis lycopersia* واسع الانتشار وكذا مرض اللفحة المتأخرة المتسبب عن *ph. Infestans* وعلى الأخص فى العروات الشتوية .

حصر أهم الأمراض البكتيرية التى تصيب البطاطس والطماطم

أثبت حصر الأمراض البكتيرية على البطاطس انتشار مرض الذبول البكتيرى المتسبب عن البكتيريا *Ralstonia solanacearum* فى جميع مناطق الزراعة بالدلتا أما بالنسبة لنباتات الطماطم فكان مرض التبقع البكتيرى على الأوراق والثمار المتسبب عن بكتيريا *Xanthomonas compstris cv. Vesicatora* واسع الانتشار فى زراعات الطماطم .

حصر أهم الأمراض الفيروسية التى تصيب البطاطس والطماطم

أثبت الحصر انتشار الفيروسات PRLV , PVY , PVX , PVM , PVS على زراعات البطاطس ، أما على نباتات الطماطم قد أمكن التعرف على فيروس تجمعد الأوراق الصفراء فى الطماطم وموزايك الطماطم وموزايك الخيار CMV .

حصر وتعريف أجناس النيماتودا المتطفلة على البطاطس والطماطم

تم حصر الأمراض النيماتودية على الطماطم ، وقد ثبت الانتشار الواسع لنيماتودا تعقد الجذور المتسبب عن *Meloidogyne incognita* .

النباتات الزهرية المتطفلة

لوحظ في محافظة الإسماعيلية ظهور إصابات بنباتات الهالوك ، جمعت وعرفت على أنها تنتمي لنوعين هما *O. egyptiaca* , *Orbanche ramosa* .

حصر لأهم الآفات الحشرية على البطاطس والطماطم

أثبت الحصر انتشار حشرة المنّ على البطاطس والذباب الأبيض ، كما ثبت انتشار حشرة المنّ على الطماطم والذباب الأبيض .

٣-٢- إنجازات المشروع خلال الفترة الثانية من ١٦ / ٨ / ٢٠٠٤ إلى ١٦ / ٢ / ٢٠٠٥ /

إنجازات المشروع خلال الفترة من ١٦ / ٨ / ٢٠٠٤ إلى ١٦ / ٢ / ٢٠٠٥ خلال هذه الفترة ، تم التوصل للمستخلصات التي ستستخدم في الدراسة وهي إيثايل حمض الساليسليك (٠,١٢٥ مل / لتر) ، حمض الجاسمونيك (٠,١٢٥ مل / لتر) ، المستخلص المائي لشماريخ المانجو المشوهة (١٥٠ جم / لتر) ، محلول لبن جوز الهند (٢%) ، محلول الأجريسبون (١ مل / لتر) ومحلول السنكوسين (١ مل / لتر) .

من إنجازات هذه الفترة هو القدرة على الكشف عن الإصابات المتخفية في درنات البطاطس لبكتيريا الذبول البكتيري (العفن البنى) *Rotstonia solanacearum* وذلك باستخدام مستخلص نورات المانجو المشوهة كعامل يؤدي لظهور أعراض مماثلة لعرض الذبول البكتيري في درنات البطاطس بدقة عالية جداً .

في هذه الفترة درس إمكانية مكافحة مرض الذبول البكتيري (العفن الطرى) . وقد ثبت أن معاملة درنات البطاطس قبل زراعتها بحمض الجاسمونيك ولبن جوز الهند ومستخلص نورات المانجو المشوهة أدت إلى خفض شدة الإصابة بالمرض تحت ظروف العدوى الصناعية بالبكتيريا المسببة للمرض ، وقد أدت هذه المعاملات لزيادة محصول درنات البطاطس وخفض إصابة الدرنات بالبكتيريا المسببة للذبول البكتيري .

درس خلال هذه الفترة تأثير المعاملات المختلفة بالمركبات السابقة الذكر على تعداد بعض حشرات رتبة نصفية الأجنحة والعنكبوت الأحمر على نباتات البطاطس .

أثبتت النتائج المتحصل عليها وجود تباين واضح في تعداد حوريات الذباب الأبيض على نباتات البطاطس ، حيث لم يسجل وجود للحوريات على النباتات المعاملة يليه جوز الهند وحمض الجاسمونيك وحمض إيثايل ساليسليك وأدت المعاملة بالأجريسبون لزيادة تعداد الحوريات .

لوحظ كذلك انخفاض الكثافة العددية لحشرة نطاط أوراق البطاطس في النباتات المعاملة مقارنة بالنباتات غير المعاملة . كما أدت المعاملات لانخفاض أعداد العنكبوت الأحمر نتيجة للمعاملات المختلفة مقارنة بالنباتات غير المعاملة .

تم التركيز فى هذا التقرير على دراسة تأثير المعاملة بالعوامل المستحثة المختلفة على إصابة نباتات البطاطس بالأمراض الفيروسية ، حيث تمت معاملة الدرنات وحقن أوراق النباتات الناتجة بفيروس PVY وتم تقدير شدة الإصابة بطريقة Double ELISA (DAS) antibiotic sandwich ELISA وقرأت النتائج باستخدام جهاز ELISA reading وقد أثبتت النتائج المتحصل عليها خفض الإصابة بالفيروسات وكذا الإصابة الناتجة عن فيروس التفاف الأوراق RLRV .

٣-٣ - إنجازات المشروع خلال الفترة الثالثة ٢٠٠٥/٢/١٦ إلى ٢٠٠٥/٨/١٦

تم فى هذه الفترة اختبار مستخلصات نباتية ومستخلص الطحلب البنى Fucus وتوكسين الفطر Myrothecium verrucaria ومستخلص ميسليوم الفطر Phytophthora infestans وكذلك بعض الزيوت النباتية على إنبات جراثيم الفطر Botrytis allii وقدرتها على رفع نشاط إنزيم Peroxidase فى شرائح درنات البطاطس. وقد ثبت من النتائج المتحصل عليها أن كثير من المستخلصات والزيوت النباتية تؤدي لرفع نشاط إنزيم Peroxidase إلا أنها تؤدي فى نفس الوقت للتقليل أو منع إنبات جراثيم فطر الاختبار B.alii وبذلك لا يمكن استخدام أغلب هذه المواد كمعامل مستحثة لمقاومة الأمراض النباتية ، حيث أن الشرط الأساسى للمواد التى تستخدم للحث على المقاومة أن لا يكون لها أى تأثير على فطر الاختبار .

درس تأثير العوامل الكيماوية (إيثايل حمض الساليسليك وحمض الجاسمونيك) والعوامل النباتية (لبن جوز الهند ، مستخلص نورات المانجو المشوّهة ، الأجرىسبون وسنكوسين) على مرض عفن التاج والجذور الفيوزارمى فى الطماطم وهذا أحد الأمراض الشائعة الانتشار ، أثبتت النتائج أن معاملة جذور شتلات الطماطم قبل الزراعة بإيثايل حمض الساليسليك ولبن جوز الهند ومستخلص نورات المانجو المشوّهة ومحلول الأجرىسبون ومحلول السنكوسين قد أدت لرفع متوسط وزن المجموع الجذرى لنباتات الطماطم المعاملة مقارنة بالمعدية بالفطر والغير معاملة .

فى هذا التقرير تم دراسة تأثير المعاملة بالمحفزات المناعية على مدى تقدم الإصابات الفيروسية بفيروس TMV المحقون به النباتات ورش النباتات بعد حقنها بالفيروس بالمحفزات المناعية .

ثبت من الدراسة أن رش نباتات الطماطم بإيثايل حمض الساليسليك قد أدت لخفض عدد أوراق نباتات الطماطم المصابة بفيروس TMV إلى ٢٧,٣% مقارنة بالغير معاملة وأن المعاملة السنكوسين وحمض الجاسمونيك الأجرىسبون ولبن جوز الهند قد أدت لتقليل عدد الأوراق المحتواة على الفيروس والتى أظهرت عرض الموزايك مقارنة بالنباتات غير المعاملة .

كما أدت المعاملة إيثايل حمض الساليسيليك السنكوسين الأجريسبون لخفض عدد البقع المحلية على نباتات *Nicotiana glutinosa* مما يؤكد على أن هذه المعاملات قد قللت من تركيز الفيروس في أوراق النباتات المحقونة المعاملة مقارنة بالمحقونة الغير معاملة .

خلال هذه الفترة تركز الاهتمام كذلك على تأثير المعاملة بالمحفزات المناعية على إصابة نباتات الطماطم بمرض تعقد الجذور النيماتودي المتسبب عن نيماتودا *Meloidogyne spp* حيث تمت عددي التربة المعقمة بيرقات النيماتودا ، عوملت جذور الشتلات قبل الزراعة كما رشّت النباتات بعد الزراعة بعوامل الحث على المقاومة .

وقد ثبت أن مستخلص نورات المانجو المشوهة قد تفوق في تأثيره لمقاومة مرض تعقد الجذور النيماتودي عن مادة السنكوسين وهى المادة التى يوصى باستخدامها لمقاومة هذا المرض عالميا ، كما ثبت أن جميع عوامل الحث على المقاومة قد أدت لخفض شدة إصابة الجذور بمرض التعقد النيماتودي وعلى الأخص السنكوسين الأجريسبون وحمض الجاسمونيك وحمض إيثايل ساليسيليك .

أدت معاملة نباتات الطماطم بالمحفزات المناعية للتأثير على أعداد حشرة الذبابة البيضاء على النباتات (تجارب أصص) . إلا أن محلول الأجريسبون أدى لرفع عدد الحشرات على الأوراق . كما وجد أن إيثايل حمض الساليسيليك رشاً على النباتات قد أدى لخفض تعداد العنكبوت الأحمر مقارنة بالنباتات الغير معاملة .

٣-٤- إنجازات المشروع خلال الفترة الرابعة من ٢٠٠٥/٨/١٦ إلى ٢٠٠٦/٢/١٦

فى هذه المرحلة تم التركيز على تأثير المواد المحفزة لمناعة النبات تحت ظروف الحقل ، حيث اختبر حقل البطاطس بقعا فى منطقة الدير - شبين القناطر - محافظة القليوبية ، حيث تزرع البطاطس باستمرار وهى أحد المناطق الموبوءة بالأمراض والحشرات .

لذلك ، فقد تم رش نباتات البطاطس بالمحفزات المناعية المختلفة وتم تقدير شدة الإصابة بمرض الندوة المتأخرة ، والذبول البكتيرى (العفن البنى) والإصابات الفيروسية بالدرنات الناتجة وخص الحقل الآخر لدراسة الآفات الحشرية والعنكبوت الأحمر .

فيما يتعلق بمرض اللفحة المتأخرة المستبب عن *Phytophthora infestans* ثم أولاً تقدير متوسط عدد البقع / نبات مع بداية ظهور أعراض الإصابة بالمرض ، وقد ثبت من النتائج المتحصل عليها أن لبن جوز الهند ومستخلص نورات المانجو المشوهة قد أثبتتا فعالية عالية فى تقليل متوسط عدد البقع / نبات ، يليهم من حيث التأثير الأجرىسون ثم السنكوسين ثم إيثايل الساليسيليك وأقل معاملات تأثيراً هو حمض الجاسمونيك ، وبعد انتشار المرض تم تقدير شدة الإصابة النهائية . وقد أثبتت النتائج أن الرش بمستخلص نورات المانجو المشوهة ولبن جوز الهند قد أديا لانخفاض شديد فى شدة الإصابة مقارنة بالنباتات غير المعاملة وقد أعطى كل من محلول الأجرىسون ومحلول السنكوسين وحمض الجاسمونيك وحمض إيثايل ساليسيليك نتائج جيدة فى خفض شدة الإصابة بالمرض .

بالنسبة لمرض الذبول البكتيرى (العفن البنى) ، فقد أثبتت النتائج انخفاض النسبة المئوية للدرنات الحاملة لبكتريا الذبول البكتيرى *Ralstonia solanacearum* ، حيث بلغت فى المقارنة ٧٤% وفى حالة الرش بحمض الجاسمونيك ٥٧% وإيثايل ساليسيليك ٦٥% والأجرىسون ٥١% ولبن جوز الهند ٦١% ومستخلص نورات المانجو المشوهة ٤٨% . كما انخفضت كذلك شدة الإصابة وأثبت كل من حمض الجاسمونيك ومستخلص نورات المانجو المشوهة والأجرىسون كفاءة عالية فى خفض شدة الإصابة .

تم تقدير الإصابات الفيروسية بالدرنات بطريقة DAS - ELISA ، وقد أثبتت النتائج أن النسبة المئوية للدرنات الحاملة للفيروسات PVY , RLRV هى ٥٢,٩% و ٢٩,٤% على التوالى ، وقد ثبت أن رش نباتات البطاطس بالسنكوسين أو بحمض إيثايل ساليسيليك أفضل النتائج ، حيث بلغت النسبة المئوية للدرنات الحاملة لفيروس PVY صفر % والحاملة لفيروس التفاف الأوراق ٥٩% ومن ناحية أخرى ، فقد ثبت أن الأجرىسون لم تسجل أية إصابة للدرنات للنباتات المعاملة به النسبة لفيروس PVY فى الحقل الآخر ، فى نفس المكان تم رش النباتات بالمعاملات المختلفة وتقدير أعداد الحشرات والعنكبوت الأحمر على فترات بدأت من ١ / ١ / ٢٠٠٦ م .

ثبتت أن رش النباتات بحمض الجاسمونيك السنكوسين قد أدى لخفض تعداد حوريات الذباب الأبيض بدرجة ملحوظة يليهم مستخلص نورات المانجو المشوهة تم حمض إيثايل ساليسيليك والأجريسبون .

بالنسبة للحشرات الكاملة للذباب الأبيض ، فقد أثبتت النتائج أن رش النباتات بحمض إيثايل ساليسيليك أو السنكوسين أو الأجريسبون ولبن جوز الهند وحمض الجاسمونيك قد أدت لخفض تعداد الحشرة .

بالنسبة لتعداد حشرة المن ، فقد وجد أن رش النباتات بحمض إيثايل ساليسيليك أو السنكوسين أو لبن جوز الهند أو حمض الجاسمونيك قد أدت لخفض تعداد هذه الحشرة مقارنة بالعدد في حالة النباتات غير المعاملة .

بالنسبة لتعداد الجاسيد (نطاط أوراق البطاطس) ، فقد أثبتت النتائج أن الرش بمحلول حمض إيثايل ساليسيليك أو لبن جوز الهند أو محلول السنكوسين قد أدى لتقليل عدد نطاط الأوراق مقارنة بالنباتات غير المعاملة في جميع فترات التقدير .

بالنسبة لتعداد الأكاروس ، فقد أدى رش النباتات بحمض إيثايل ساليسيليك لحدوث خفض شديد في عدد الأكاروسات على أوراق نباتات البطاطس . وقد أدى الرش بمحلول السنكوسين أو محلول الأجريسبون لخفض ذلك العدد معنوياً مقارنة بالنباتات غير المعاملة.

٣-٥- إنجازات الأجريسبون لخفض ذلك العدد معنوياً مقارنة بالنباتات غير المعاملة

في هذه الفترة تركز الاهتمام على إمكانية تحفيز مقاومة الدرنات لمرض العفن الطرى البكتيري المتسبب عن بكتريا *Erwinia carotovora subsp. Carotovora* . ونظراً لعدم وجود طريقة فعالة لمقاومة هذا المرض سوى استخدام المضادات الحيوية ، والذي قد يؤدي استخدامها على نطاق واسع لاكتساب البكتريا القدرة على مقاومة المضادات الحيوية .

لذلك ، تم ابتعاث مقاومة الدرنات عن طريق المعاملة ببخار إيثايل حمض الساليسيليك والذي أدى لاكتساب الدرنات المعاملة قدرة فائقة على مقاومة هذا المرض .

استخدام نفس المركب بغرض منع إنبات الدرنات أثناء التخزين وكذا إصابتها بالعفن الجاف الفطرى والعفن الجاف البكتيرى . ومن إنجازات هذه الفترة إمكانية منع تزرير الدرنات لمدة أربعة أشهر واكتسابها قدرة عالية على مقاومة الإصابة بمرض العفن الطرى البكتيرى والعفن الجاف الفيوزارى المتسبب عن أنواع جنس *Fusarium* .

فى هذه الفترة بدأت دراسة قدرة المركبات المختلفة على ابتعاث بناء العوامل الكيموحيوية والجزيئية ذات العلاقة بابتعاث مقاومة النبات للأمراض ، واحد هذه العوامل الهامة هو القدرة على ابتعاث بناء الفيتوالكسينات فى النباتات .

ثبت أن حمض إيثايل ساليسيليك قادر على ابتعاث بناء ثلاث مركبات سسكترينية *Sesquiterpene phytoalexin* الأول ذو قيمة $RF = 0.175$ وهو مركب غير معروف ولم يسبق تسجيله ، والثانى ذو قيمة $RF = 0.509$ وهو المركب اللوبيمين والثالث ذو قيمة $RF = 0.824$ وهو الفيتوبرين . وجد أن حمض الجاسمونيك يبتعث بناء خمسة مركبات سسكترينية ثلاثة منهم مجهولة وإثنان آخران هما لوبيمين والفيتوبرين . أدت معاملة درنات البطاطس بمحلول لبن جوز الهند لابتعاث بناء أربعة مركبات اثنان منهم مجهولة والثالث هو لوبيمين والرابع فيتوبرين .

أدى السنكوسين لابتعاث بناء أربعة مركبات أحدهم مادة مجهولة وثلاث مركبات هى الريشيتين ذو قيمة $RF = 0.203$ والاثنان الآخران هما لوبيمين وفيتوبرين .

أدى الأجرىسون لابتعاث بناء ثلاثة مركبات أحدهما مادة مجهولة والاثنان الآخران هما اللوبيمين وفيتوبرين .

أدى محلول مستخلص نورات المانجو المشوهة لابتعاث بناء مركبين هما لوبيمين وفيتوبرين .

ولم يسبق أن عرف أن المركبات المستخدمة فى الدراسة ذو قدرة على بناء الفيتوالكسينات فى نباتات البطاطس من قبل ، وقد ذلك أول تسجيل على أن هذه المواد تعمل لـ *Elicitors* لبناء الفيتوالكسينات فى البطاطس .

Reference

- Bol, JF ; Linthorst , H.J.M. and Cornelissen , B.J.C. (1990) . plant pathogenesis – related proteins induced by virus infection . Annu . Rev . Phytopathology , 28 : 113 – 138
- Evers , D ; C. Schweitzer , N. Nicot ; S. Gigliotti ; M.R. Herrera ; J.F. Hansman ; L. Hoffmann , B. Trognitz ; J. Dommes , M. Ghislain (2006) . Physiological and Molecular plant pathology , 67 : 155 – 163
- Kuc , J. 1982 . Induced immunity to plant disease ; Bio Science 32 : 854 – 860
- Matton , D.P. and Brisson N. (1989) . Cloning expression and sequence conservation of pathogenesis – related gene transcribes of potato Mol . Plant Microbe Interact . 2 : 325 – 331
- Okuno , T , M. Nakayama , N. Okajima and I. Furusawa . (1991) . Systemic resistance to downy mildew and appearance of acid soluble proteins in cucumber leaves treated with biotic and abiotic inducers . Ann. Phytopathol . Soc . Jpn. 57 : 203 – 221
- Swoboda , I ; Hoffmannsommergruber , K ; Oriordain G . Scheiner , O ; Heherlehors , E. and Vicente , O. (1996) BET VI proteins , the major birch pollen allergens and members of a family of conserved pathogenesis related proteins , show ribonuclease activity in titro physiol . plant , 96 : 433 – 438
- Vivianne , G ; A.A. Vlesshouwers , W. Van Dooije – Weert , F. Govers , S. Kamoun and L. Cohen (2000) . Does basal PR gene expression in Solanum species contribute to non – specific resistance to phytophthora infestans



الباحث الرئيسي والباحث المناوب يتوسطوا مجموعة من الفريق البحثي للمشروع

حادى عشر : " المقاومة المستحثة ضد أمراض محصول الفول البلدى "

رسالة مقدمة من السيد / محمد محمود مازن متولى للحصول على درجة الدكتوراه فى فلسفة العلوم الزراعية (أمراض نبات) من قسم النبات الزراعى - كلية الزراعة جامعة قناة السويس عام ٢٠٠٤ تحت إشراف : أ.د. متولى على بركة ، أ.د. سعيد أحمد محمد عمر .

يعتبر الفول البلدى من المحاصيل البقولية الهامة فى مصر ويزرع فى مساحات كبيرة فى العالم وهو ذو قيمة غذائية عالية للإنسان والحيوان ، حيث يحتوى على نسبة عالية من البروتين ويصاب الفول البلدى بعدد من الأمراض الفطرية أهمها التبقع البنى (الشيكولاتى) وأعفان الجذور التى تسبب نقصاً فى المحصول .

ويمكن تلخيص نتائج الدراسة فى النقاط التالية :

١- أوضحت نتائج الحصر خلال موسم ٢٠٠٠ - ٢٠٠١ فى ٧ محافظات مختلفة فى مصر أن أعلى شدة إصابة لمرض التبقع البنى (الشيكولاتى) فى الفول البلدى فى محافظة البحيرة يليها محافظة الغربية . أما بالنسبة لأعفان جذور الفول البلدى فقد سجلت أعلى نسبة إصابة بالمرض فى محافظة كفر الشيخ والبحيرة بينما أقل نسبة إصابة بالمرض كانت فى محافظة الغربية والشرقية .

٢- أوضحت نتائج العزل من أوراق الفول البلدى المصابة من المحافظات المختلفة أن أكثر الفطريات المعزولة تكررراً هو العفن *B.fabae* بنسبة ٣٧,٩٣ % يليها الفطر *Alternaria* بنسبة ٢٩,٤٣ % يليها الفطر *B. Stemphylium sp.* بنسبة ١١,٧٠ % ، ١١,٤٤ % ، ٩,٥٠ % على التوالى. أما بالنسبة للعزل من جذور نباتات الفول البلدى المصابة فقد وجد أن الفطر *Rhizoctonia* أكثر الفطريات المعزولة تكررراً بنسبة ٣٨,٢٣ % يليه الفطر *Fusarium solani* , *Fusarium oxysporum* *pythium spp* .

٣- عند إجراء اختبار القدرة المرضية لعزلات الفطر *B. fabae* والفطر *B.cinerea* وجد أن جميع العزلات المختبرة لها القدرة على إصابة نباتات الفول البلدى بدرجات مختلفة وكانت عزلات الفطر *B.fabae* أكثر فى القدرة المرضية من عزلات الفطر *B.cinerea* كما وجد أن عزلات الفطر *B.fabae* المعزولة من محافظة البحيرة كانت أقوى العزلات من حيث القدرة المرضية يليها عزلة محافظة المنوفية على التوالى فى حين كانت عزلة محافظة الغربية أقل العزلات من حيث القدرة المرضية أما بالنسبة لعزلات الفطر *B.cinerea* فقد وجد أن عزلة محافظة البحيرة كانت أقوى العزلات من حيث القدرة

المرضية فى حين أن عزلات محافظة المنوفية والغربية أقل العزلات من حيث القدرة المرضية . فى حين أن عند إجراء القدرة المرضية لعزلات الفطر R.solami وجد أن عزلة كفر الشيخ من أقوى العزلات من حيث القدرة المرضية يليها عزلة محافظة الدقهلية . فى حين كانت عزلة محافظة الشرقية أقل العزلات من حيث القدرة المرضية لحدوث موت البادرات .

٤- اختلفت أصناف الفول البلدى المختبرة من حيث حساسيتها للإصابة بمرض التبقع الشيكولاتى تحت ظروف الحقل حيث وجد أن الصنف جيزة ٤٦١ ونوبارية من أكثر الأصناف مقاومة للإصابة بتبقع الأوراق الشيكولاتى . فى حين أن الأصناف جيزة - ٤٠ ومصر ١ وجيزة - ٢ من أكثر الأصناف حساسية للإصابة أما باقى الأصناف المختبرة كانت متوسطة المقاومة أو متوسطة الحساسية للإصابة ، كما اختلفت أصناف الفول البلدى المختبرة من حيث حساسيتها للإصابة بمرض موت البادرات تحت ظروف الحقل ، وجد أن الصنف نوبارية - ١ وجيزة - ٧١٧ وجيزة ٤٦١ أكثر الأصناف مقاومة فى حين أن الأصناف جيزة - ٨٤٣ ، جيزة - ٢ من أكثر الأصناف حساسية للإصابة أما باقى الأصناف كانت متوسطة الحساسية للإصابة .

٥- أظهر الفحص باستخدام تكتيك الإكثار العشوائى للحامض النووى متعدد الأشكال (RADP) وتفاعل عديد البلمرة (PCR) باستخدام نوعين من البادى P1 , P2 مع العزلات المختلفة من الفطر B.fabae أن هناك درجة من التماثل بين العزلات المختلفة أن كلا من البادئان المستخدمان P1 , P2 وضع العزلات رقم ١ ، ٢ المعزولة من محافظة البحيرة (ذات القدرة المرضية العالية) تحت مستوى واحد درجة التماثل فيه تتراوح ما بين ٨٨ ، ٩٨ - ٩٧,٥٣% على التوالى حسب البادى المستخدم P1 , P2 أما العزلة رقم (٤) المعزولة من محافظة الغربية وضعت تحت مستوى واحد درجة التماثل فيه تتراوح ما بين ٦٥,٩١% إلى ٩٢,٥٠% على التوالى حسب البادى المستخدم P1 , P2 . جميع العزلات الأخرى رقم ٣ ، ٥ ، ٦ ، ٧ ، ٨ ، المعزولة من محافظات كفر الشيخ والدقهلية والمنوفية ، الشرقية ودمياط ، تم وضعها تحت مستوى واحد من التماثل فيه تتراوح ما بين ٩٤,٢٣% إلى ٩٦% على التوالى حسب البادى المستخدم P1 , P2 أوضحت النتائج المتحصل عليها باستخدام الفصل الكهربائى للبروتينات هناك درجة من التماثل فى البروتينات الخاصة بالصنف المقاوم (جيزة - ٤٦١) والصنف القابل للإصابة (جيزة - ٣) حيث وصلت درجة التماثل بينهم إلى ٩٦,١% كما أوضحت الدراسة أن هناك (٤) بروتينات ذات الوزن الجزئى ٦٩ ، ٣٠ ، ٢٨ ، ٢١ ، موجودة فقط فى الصنف المقاوم

– أما البروتينات ذات الوزن الجزئى ٣١ ، ٢٩ ، ٢٢ ، موجودة فقط فى الصنف القابل للإصابة .

٦- أوضحت الدراسة أيضاً أن هناك درجة من التماثل بين بروتينات العزلة القوية للفطر *B.fabae* وأصناف الفول البلدى المقاومة ، والقابلة للإصابة حيث وصلت درجة التماثل بينهم حوالى ٤٣,٧٩ % .

٧- عند استخدام المستحاثات الحيوية تحت ظروف الصوبة فى صورة رش على المجموع الخضرى أو معاملة بذرة أدى ذلك إلى انخفاض شدة الإصابة بالفطر *B.fabae* مقارنة بالكنترول الغير معامل وكانت البكتريا *Ps.fluorsens* بتركيز (2.8×10^2 cfu) رش على المجموع الخضرى من أفضل المستحاثات الحيوية المستخدمة يليها الفطر *B.cinerea* بتركيز (2.5×10^5) فى حين كانت البكتريا *Ps.aeruginosa* أقل المستحاثات الحيوية فى التأثير على شدة الإصابة . كما وجد أيضاً أن الفطر *B.cinerea* بتركيز (2.5×10^5 جرثومة / سم) من أفضل المستحاثات الحيوية المستخدمة كمعاملة بذرة يليها البكتريا *Ps.aeruginosa* بتركيز (2.3×10^2 cfu) . عموماً فإن استخدام المستحاثات الحيوية رشاً على المجموع الخضرى كانت أكثر فعالية فى تقليل شدة الإصابة بالمرض مقارنة باستخدام المستحاثات الحيوية فى صورة معاملة بذرة .

٨- عند استخدام المستحاثات الغير حيوية تحت ظروف الصوبة سواء رشاً على المجموع الخضرى أو معاملة للبذرة أدى ذلك إلى انخفاض ملحوظ فى شدة الإصابة بالفطر *B.fabae* مقارنة بالكنترول الغير معامل وقد وجد أن حامض سالسيلك عند تركيز (٥ مللى مول) سواء رشاً على المجموع الخضرى أو معاملة البذرة من أفضل المستحاثات المستخدمة حيث قللت نسبة الإصابة بالمرض بدرجة ملحوظة يلى ذلك استخدام الاثيفون فى صورة رش للمجموع الخضرى (بتركيز ٨٠٠ جزء فى المليون) أو فى صورة معاملة بذرة بتركيز (١٠٠٠ جزء فى المليون) .

٩- وجد أن معاملة بذور الفول البلدى بالمستحاثات الحيوية قبل الزراعة (تحت ظروف الصوبة) قد أدى إلى انخفاض نسبة غياب البادرات المتسبب عن الفطر *R.solani* مقارنة بالبذور الغير معاملة وكانت البكتريا *Ps.fluorsens* بتركيز (2.8×10^2 cfu) أفضل المستحاثات الحيوية المستخدمة يليها البكتريا *Ps.aeruginosa* بتركيز (2.8×10^2 cfu) ثم مبيد البنليت بمعدل ٣ جم / كجم بذرة فى حين أن الفطر *B.cinerea* كان أقل المستحاثات الحيوية فى

الكفاءة . وجد أن معاملة بذور الفول البلدى بالمستحاثات الغير حيوية قبل الزراعة (تحت ظروف الصوية) أدى إلى انخفاض نسبة غياب البادرات المتسبب عن الفطر *R.soloni* مقارنة بالبذور الغير معاملة وكان أكفاً المستحاثات الغير حيوية المستخدمة حمض السالسيلك بتركيز (٧ مللى مول) يليه الاثيفون بتركيز (٨٠٠ جزء فى المليون) ثم الكوبالت بتركيز (١ جزء فى المليون) ومبيد البنليت بتركيز ٣ جم / كجم بذرة .

١٠- باستخدام الفصل الكهربى للبروتين وجد أن رش نبات الفول البلدى بالمستحاثات الحيوية والغير حيوية أدى إلى تكوين بروتينات جديدة فى النباتات المعاملة وهذه البروتينات المتكونة غير موجودة فى النباتات السليمة أو النباتات المعاملة بالفطر فقط . وكان أعلى عدد من البروتينات الجديدة موجودة فى النباتات التى سبق رشها بالكوبالت وبكتريا *Ps.fluorsens* يليها النباتات المعاملة بحامض الساليسليك . فوسفات البوتاسيوم الاثيفون والسابرين . فى حين أن أقل عدد من البروتينات الجديدة وجد فى النباتات التى سبق رشها بالفطر *B.cinerea* والبكتريا *Ps.aeruginosa* . كما لوحظ وجود بروتين جديد وزنه الجزيئى ٤٤ كيلو دالتون موجود فقط فى جميع النباتات التى سبق رشها بالمستحاثات الحيوية وغير الحيوية .

١١- تم دراسة تأثير المعاملة بالمستحاثات الحيوية والغير حيوية على النشاط الإنزيمى لنباتات الفول البلدى خلال فترات مختلفة وقد أوضحت النتائج ما يلى:

١١- أ- إنزيم البيروكسيديز :

• أدت المعاملة بالمستحاثات الحيوية والغير حيوية إلى زيادة ملحوظة فى نشاط إنزيم البيروكسيديز خلال فترات الاختبار مقارنة بالكنترول .

• فى حالة الصنف القابل للإصابة (جيزة - ٣) وجد أن أعلى نشاط إنزيمى كان خلال ٢٤ ساعة كما وجد أن استخدام البكتريا *Ps.fluorscens* , *Ps.aeruginosa* يليها السابونين رشا على المجموع الخضرى حقق أعلى معدل لنشاط إنزيم البيروكسيديز . فى حين أن معاملة البذور بحامض السالسيلك يليها السابونين ثم البكتريا *Ps.aeruginosa* سجلت أعلى معدل للنشاط الإنزيمى .

• أما فى حالة الصنف المقاوم (جيزة ٤٦١) وجد أن أقصى نشاط لإنزيم البيروكسيديز كان خلال من ٢٤ - ٤٨ ساعة . وقد وجد أن المعاملة بالبكتريا *Ps. Fluorscens* يليها الفطر *B.cinerea* المعامل حرارياً رشا

على المجموع الخضرى حقق أعلى معدل للنشاط الإنزيم أما فى حالة معاملة
البذور وجد أن استخدام حامض السالسيك يليه البكتريا *Ps.aeruginosa*
أعطى أعلى معدل لنشاط إنزيم البيروكسيديز .

١١- ب - إنزيم البولى فينول اوكسيديز :

• أكدت النتائج أن جميع المستحاثات الحيوية والغير حيوية أدت إلى زيادة
ملحوظة فى نشاط إنزيم البولى فينول اوكسيديز خلال فترات الاختبار
المستخدمة مقارنة بالكنترول ، وكان أقصى معدل لنشاط هذا الإنزيم خلال
١٢ - ٢٤ ساعة فى الصنف المقابل للإصابة (جيزة ٣) كما وجد أن
استخدام البكتريا *Ps.fluorsens* يليها والسابونين ثم الكوبالت فى صورة رش
للمجموع الخضرى أدى إلى أعلى زيادة لنشاط إنزيم البولى فينول اوكسيديز .
أما معاملة البذور بحامض السالسيك والفطر *B.cinerea* يليها السابونين
سجلت أقصى نشاط إنزيم .

• أما فى حالة الصنف المقاوم (جيزة ٤٦١) وجد أن أقصى نشاط لإنزيم
البولى فينول اوكسيديز تم تسجيله خلال ٢٤ - ٤٨ ساعة . كما وجد أن
استخدام الكوبالت والبكتريا *Ps. Aeruginosa* يليها حامض السالسيك
سجلت أقصى نشاط إنزيمى عند استخدامها رشا على المجموع الخضرى فى
حين أن استخدام البكتريا *Ps.aeruginosa* يليها *Ps.fluorsens* ثم حامض
السالسيك سجلت أقصى نشاط إنزيمى عند استخدامها فى صورة معاملة
البذور .

١١- ج - إنزيم البيتا ١ - ٣٢ جلوكاتيز :

• أكدت النتائج أن جميع المستحاثات الحيوية والغير حيوية لها القدرة على زيادة
نشاط - إنزيم البيتا ١ - ٣ جلوكاتيز مقارنة بالكنترول الغير معاملة خلال
فترات الاختبار المختلفة .

• فى حالة الصنف المقابل للإصابة (جيزة - ٣) وجد أن أقصى معدل
لنشاط الإنزيمى خلال ٤٨ ساعة . كما وجد أن استخدام حامض السالسيك
يليه البكتريا *Ps.fluorsens* ثم البكتريا *Ps.aeruginosa* فى صورة معاملة
بذرة أو فى معاملة رش على المجموع الخضرى أدى إلى زيادة الإنزيم
بدرجة كبيرة مقارنة بالمعاملات الأخرى .

• أما فى حالة الصنف المقاوم (جيزة ٤٦١) وجد أن أقصى نشاط لهذا الإنزيم
خلال الفترة من ٤٨ - ١٢٠ ساعة . كما أدت المعاملة بحامض السالسيك

يليه الكوبالت ثم البكتريا *Ps.fluoriscens* إلى أقصى نشاط للإنزيم عند استخدامه رشاً على المجموع الخضرى . فى حين أن معاملة البذرة بالكوبالت يليها المعاملة الاثيفون ثم البكتريا *Ps.fluoriscens* حققت أقصى معدل نشاط الإنزيمى .

١١- د - إنزيم الكيتينيز :

- أدت المعاملة بالمستحاثات الحيوية والغير حيوية إلى زيادة ملحوظة لنشاط إنزيم الكيتينيز (خلال فترات الاختبار المختلفة) مقارنة بالكنترول الغير معاملة . وقد سجل أقصى نشاط لإنزيم الكيتينيز خلال ٤٨ - ١٢٠ ساعة .
- فى حالة الصنف المقابل للإصابة (جيزة - ٣) وجد أن رش المجموع الخضرى بالكوبالت يليه البكتريا *Ps.fluoriscens* حقق أقصى زيادة فى نشاط هذا الإنزيم . فى حين أن معاملة البذرة بحامض السالسيك يليه البكتريا *Ps.fluoriscens* ثم K_2HPO_4 سجلت أقصى زيادة لنشاط الإنزيم .
- وفى حالة الصنف المقاوم (جيزة ٤٦١) وجد أن استخدام حامض السالسيك يليه K_2HPO_4 ثم البكتريا *Ps.aeruginosa* رشاً على المجموع الخضرى حقق أعلى زيادة لنشاط هذا الإنزيم . وعند معاملة البذرة بالمستحاثات التالية للكوبالت ثم حامض السالسيك ثم البكتريا *Ps.fluoriscens* سجلت أقصى نشاط لهذا الإنزيم .

- وجد أن هناك علاقة بين الزيادة فى النشاط للإنزيمات (البيروكسيدز - البولى فينول أوكسيدز - الجلوكاتيز - الكيتينيز) فى تقليل شدة الإصابة .

١٢- أكدت نتائج التجارب الحقلية أن جميع المستحاثات الحيوية والغير حيوية المستخدمة قللت بدرجة ملحوظة من شدة الإصابة بمرض التبقع الشيكولاتى للقول البلدى مقارنة بالنباتات الغير معاملة . وجد أن حامض السالسيك بتركيز (٥ مللى مول) والبكتريا *Ps.fluoriscens* بتركيز (2.8×10^2) يليها الكوبالت بتركيز (١ جزء فى المليون) الاثيفون بتركيز (٨٠٠ جزء فى المليون) من أفضل المستحاثات المستخدمة حيث قللت من شدة الإصابة بالمرض بدرجة كبيرة عند استخدامها رشاً على المجموع الخضرى ، كما أن

معاملة بذور الفول البلدى قبل الزراعة بالمستحاثات التالية حامض السالسيك بتركيز (٥ مللى مول) يليها الاثيفون بتركيز (٨٠٠ جزء فى المليون) والبكتريا *Ps.fluoriscens* كانت أفضل المستحاثات التى خفضت من شدة الإصابة بالمرض .

١٣- وجد أيضاً أن معاملة بذور الفول البلدى بالمستحاثات الحيوية والغير حيوية قبل الزراعة خفض من شدة الإصابة بمرض أعفان الجذور تحت ظروف الحقل وذلك مقارنة بالكنترول الغير معاملة . فى محافظة المنوفية والبحيرة وجد أن الاثيفون بتركيز (١٠٠٠ جزء فى المليون) وحامض السالسيك بتركيز (٧ مللى مول) والبكتريا *Ps.fluoriscens* بتركيز (2.8×10^2) من أفضل المستحاثات المستخدمة حيث قلت من نسبة غياب البادرات بدرجة كبيرة .

١٤- أكدت نتائج التجارب الحقلية أن استخدام المستحاثات الحيوية فى (صورة معاملة بذرة أو رش المجموع الخضرى أدى إلى زيادة ملحوظة فى القياسات المحصولية لنباتات الفول المعاملة مقارنة بالكنترول الغير معاملة وقد وجد أن معاملة النبات بهذه المستحاثات مرتين أعطى أفضل النتائج مقارنة بالمعاملة مرة واحدة) .

١٥- أكدت نتائج معاملة البذرة بالمستحاثات الحيوية والغير حيوية أن المعاملة بالبكتريا *Ps.fluoriscens* يليها حامض السالسيك أدت إلى زيادة ملحوظة بالنسبة لطول الساق . فى حين أن البكتريا *Ps.fluoriscens* Co^{++} حققت أعلى معدل للوزن الرطب والجاف فى الساق ، أما البكتريا *Ps.fluoriscens* ثم الكوبالت حققت أعلى معدل لوزن الساق — ١٠٠ بذرة . أما أعلى معدل للمحصول تم تسجيله عند معاملة البذرة بالبكتريا *Ps.fluoriscens* والسالسيك أسد . كما أكدت النتائج أن رش المجموع الخضرى بالمستحاثات الكوبالت يليه البكتريا *Ps.fluoriscens* أو السالسيك أسيد سجلاً أعلى معدل لطول الساق ، أما أعلى وزن رطب وجاف للساق وجد عند المعاملة بالـ الكوبالت والسالسيك أسد يليهم *Ps.fluoriscens* بينما السالسيك أسيد *Ps. Fluoriscens* والكوبالت سجلوا أعلى معدل لوزن الساق — ١٠٠ بذرة والمحصول .

ثانى عشر : " دراسات على المقاومة المستحثة للبياض الدقيقى فى الخيار تحت ظروف الصوبة والزراعات المحمية :

للباحثة / إيمان محمود حسين عبد الكريم للحصول على درجة الدكتوراه فى العلوم (نبات زراعى) عام ٢٠٠٨ - تحت إشراف أ.د. محمود عبد المحسن سويلم ، أ.د. محمد صلاح الدين فليفل .

محصول الخيار واحد من أهم محاصيل الخضروات ليس فى مصر وحدها بل فى كل دول العالم تقريباً . الخيار يعتبر بيئة ومهد مناسب للعديد من الأمراض النباتية والتي تسبب الكثير من الخسائر . البياض الدقيقى أحد هذه الأمراض التي تهاجم محصول الخيار مسببة نقص فى المحصول يمكن تلخيص أهم نتائج البحث فيما يلى :

١- أظهرت العينات المختلفة من أوراق الخيار المصابة والتي تم تجميعها من أماكن مختلفة من الجمهورية أعراض البياض الدقيقى .

٢- أوضحت نتائج الفحص الميكروسكوبى لعزلات مختلفة من البياض الدقيقى والتي تم تجميعها من ٦ محافظات مختلفة من الجمهورية أن المسبب المرضى للبياض الدقيقى هو *Sphaerotheca fuliginea* وليس *Erysiphe cichoraceum*.

٣- أوضحت نتائج القدرة المرضية تحت ظروف الصوبة لـ ٦ عزلات مختلفة من البياض الدقيقى معزولة من ٦ محافظات مختلفة من الجمهورية وهى الجيزة ، القليوبية ، الشرقية ، المنوفية ، البحيرة وكفر الشيخ أن جميع العزلات كانت لها القدرة على إحداث الإصابة وقد سجلت عزلة القليوبية أقوى العزلات من حيث القدرة المرضية يليها عزلة المنوفية بينما سجلت باقى العزلات أقل قدره مرضية.

٤- اختلفت أصناف الخيار المختلفة من حيث حساسيتها للإصابة بالبياض الدقيقى تحت ظروف الصوبة وقد سجلت الأصناف بيتا ألفا و روا كأكثر الأصناف حساسية للبياض الدقيقى كما كان باسندرا وزينا هجين أقل للإصابة بينما كان سليبريتى مقاوم للإصابة . وقد تراوحت باقى الأصناف المختبرة بين متوسطة الحساسية ومتوسطة المقاومة .

٥- تم اختبار تأثير ٣ تركيزات مختلفة من المستحضرات الحيوية والغير حيوية كعامل بذرة أو رش على المجموع الخضرى تحت ظروف الصوبة وقد سجلت جميع المستحضرات المختبرة انخفاض ملحوظ فى شدة الإصابة بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) وقد سجلت التركيزات الآتية أفضل النتائج وهى ١٠^١ وذلك مع استخدام الباسلس ستلس و ١٠^٦ مع استخدام الترايكودرما

هاريزيانم و ٠,٠٣ جرام / لتر فى حالة استخدام الاكوا - ١٠ . ومن الناحية الأخرى سجلت التركيزات الآتية أفضل التركيزات المستخدمة مع المستحضرات الكيماوية وهى ١٠ ، ٢٠ ، ١٠ ، ٥ ، ٢٠ مللى مول وذلك مع استخدام حامض الاوكسليك ، السالسيك ، البوتاسيوم او كسالات ، البوتاسيوم فوسفات و الفونوفور كما سجل حامض السيتريك والبوتاسيوم كلورايد أفضل النتائج مع التركيزات الآتية ٠,٠٤% ، ٠,٠٥% بينما سجل البيون أفضل النتائج باستخدام تركيز ٠,١٨ جرام / لتر .

٦- أوضحت النتائج المتحصل عليها أن الاكوا ١٠ سجل أفضل المستحضرات الحيوية فى تقليل شدة الإصابة بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) وذلك كمعاملة بذرة بينما سجل البيون أفضل المستحضرات الغير حيوية .

٧- أوضحت النتائج المتحصل عليها أن الترايكوديرما هاريزيانم يليه الاكوا ١٠ كانت أفضل المستحضرات الحيوية المستخدمة فى تقليل شدة الإصابة بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) عند استخدامها رشاً على المجموع الخضرى مرة واحدة أو مرتين بينما سجل البيون والفوتوفور أفضل المستحضرات الكيماوية المستخدمة وذلك عند استخدامها رشاً على المجموع الخضرى مرتين.

٨- أوضحت النتائج المتحصل عليها أن رش المجموع الخضرى بالمعاملات الحيوية والغير حيوية سجل أفضل النتائج فى تقليل شدة الإصابة بالمقارنة بمعاملة البذرة كما سجل الرش مرتين على المجموع الخضرى أفضل النتائج بالمقارنة بالرش مرة واحدة .

٩- أوضحت النتائج المتحصل عليها أن معاملة المجموع الخضرى بالمستحضرات الحيوية والغير حيوية أدى إلى زيادة ملحوظة فى القياسات المحصولية لنباتات الخيار (طول المجموع الخضرى والمجموع الجذرى ، الوزن الرطب والوزن الجاف للمجموع الخضرى والجذرى) بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) كما أوضحت النتائج أن رش المجموع الخضرى بالمستحضرات الحيوية والغير حيوية مرتين أعطى أفضل النتائج فى تقليل شدة الإصابة بالمقارنة بالرش مرة واحدة .

٩-١ سجل حامض الساليسالك يليه البوتاسيوم فوسفات ، الفانجاستوب وحامض السيتريك أعلى زيادة فى طول المجموع الخضرى بالمقارنة بالمعاملات الأخرى عند رشها مرة واحدة بينما سجل حامض الساليسالك والبوتاسيوم فوسفات أعلى زيادة فى طول المجموع الخضرى عند استخدامها بالرش

مرتين على المجموع الخضرى . بالإضافة إلى ذلك سجل حامض الساليسالك ، الفانجاستوب وحامض السيترك أعلى زيادة فى طول المجموع الجذرى باستخدام كل من الرشّة الأولى والثانية .

٩-٢- سجل الفوتوفور يليه كل من الترايكودرما هاريزيانم ، البيون والفنجانستوب أعلى زيادة فى الوزن الرطب للمجموع الخضرى باستخدام الرشّة الأولى بينما سجل الفوتوفور يليه البوتاسيوم كلورايد ، حامض الاوكسالك وحامض السيترك أعلى زيادة فى الوزن الرطب للمجموع الخضرى مع استخدامها بالرش مرتين على النباتات .

٩-٣- أوضحت النتائج المتحصل عليها زيادة فى الوزن الرطب للمجموع الجذرى نتيجة المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) باستخدام كل من الرشّة الأولى والثانية . وقد سجل الفوتوفور يليه الفانجاستوب أعلى زيادة فى الوزن الرطب للمجموع الجذرى باستخدام الرشّة الأولى بينما سجل الفوتوفور يليه الفانجاستوب والباسيلس ستلس أعلى زيادة فى الوزن الرطب للمجموع الجذرى باستخدام الرشّة الثانية .

٩-٤- أدت المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية إلى زيادة ملحوظة فى الوزن الجاف للمجموع الخضرى والمجموع الجذرى بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) وقد سجل البوتاسيوم فوسفات والبوتاسيوم كلورايد أعلى زيادة فى الوزن الجاف للمجموع الخضرى باستخدام الرشّة الأولى والثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى ، بينما سجل البوتاسيوم كلوريد أعلى زيادة فى الوزن الجاف للمجموع الجذرى باستخدام الرشّة الأولى . كما سجل الباسيلس ستلس يليه حامض السيترك والبوتاسيوم اوكسالات أعلى زيادة فى الوزن الجاف للمجموع الجذرى باستخدام الرشّة الثانية .

١٠- تم دراسة التغيرات البيوكيميائية فى نباتات الخيار نتيجة المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية وذلك قبل العدوى وبعد ١ ، ٢ ، ٤ ، ٦ أيام من العدوى وذلك بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) .

١٠-١- أدت جميع المستحثات الحيوية والغير حيوية إلى زيادة ملحوظة فى محتوى النباتات من الفينولات الحرة بالمقارنة بالنباتات الغير معاملة (الكنترول) . وقد سجل البيسيدومونس فلوريسنس يليه البيون أعلى زيادة فى محتوى النباتات من الفينولات الحرة بالمقارنة بالمعاملات الأخرى وذلك باستخدام الرشّة الأولى كما سجل البيون والبيسيدومونس فلوريسنس وحامض الساليسالك أعلى زيادة من خلال الرشّة الثانية . كما أدت المعاملة

بالمستحضات المختلفة إلى زيادة فى محتوى النباتات من الفينولات الكلية وذلك بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) وقد سجل البيون البيسيدومونس فلوريسنس أعلى زيادة فى محتوى النباتات من الفينولات الكلية باستخدام الرشاة الأولى بينما سجل الفوتوفور ، السيسدومونس فلوريسنس وحامض الاوكسالك أعلى زيادة من خلال الرشاة الثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى .

١٠-٢- أوضحت النتائج المتحصل عليها زيادة فى محتوى النباتات من السكريات المختزلة والكلية نتيجة المعاملة بالمستحضات الحيوية والغير حيوية المختلفة خلال الفترات الزمنية والمختبرة وذلك بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) ، وقد سجل حامض الساليسالك ، البيون والبوتاسيوم كلورايد أعلى زيادة فى محتوى النباتات من السكريات المختزلة من خلال الرشاة الأولى بالمقارنة بالمعاملات الأخرى . وقد سجل السيسدومونس فلوريسنس ، حامض السيتريك والبيون أعلى زيادة فى محتوى النباتات من السكريات المختزلة من خلال الرشاة الثانية . كما أوضحت النتائج المتحصل عليها أيضاً زيادة فى محتوى النباتات من السكريات الكلية بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) وقد سجل البوتاسيوم كلورايد وحامض الاوكسالك أعلى زيادة فى محتوى النباتات من السكريات الكلية باستخدام الرشاة الأولى بالمقارنة بالمعاملات الأخرى ، بينما سجل السيسدومونس فلوريسنس والترايكودرما هاريزيانم أعلى زيادة فى محتوى النباتات من السكريات الكلية من خلال الرشاة الثانية .

١٠-٣- أدت المعاملة بالمستحضات الحيوية والغير حيوية المختلفة إلى زيادة ملحوظة فى نشاط إنزيم البيروكسيداز وذلك بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) من خلال الفترات الزمنية المختبرة . وقد سجلت النتائج المتحصل عليها أعلى زيادة فى نشاط البيروكسيداز نتيجة المعاملة بالترايكودرما هاريزيانم ، الفانجاستوب ، الباسيلس ستلس والبيون بالمقارنة بالمعاملات الأخرى وذلك من خلال الرشاة الأولى ، بينما سجل الفانجاستوب يليه البوتاسيوم أوكسالات وحامض الساليسالك أعلى زيادة فى نشاط البيروكسيداز من خلال الرشاة الثانية .

١٠-٤- أوضحت النتائج المتحصل عليها أن جميع المستحضات الحيوية والغير حيوية أدت إلى زيادة ملحوظة فى نشاط إنزيم البولي فينول أوكسيداز من خلال الفترات الزمنية المختبرة وذلك بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) . وقد سجل حامض الاوكسالك يليه الفانجاستوب أعلى زيادة

في النشاط الإنزيمي من خلال الرشة الأولى بالمقارنة بالمعاملات الأخرى بينما سجل حامض الاوكسالك ، والساليسالك والبوتاسيوم كلورايد أعلى زيادة في نشاط إنزيم البولي فينول أوكسيديز من خلال الرشة الثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى .

١-٥- أوضحت النتائج المتحصل عليها زيادة في نشاط إنزيم الشيتينيز نتيجة معاملة النباتات بالمستحاثات الحيوية والغير حيوية المختلفة خلال الفترات الزمنية المختبرة بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) . سجل الترايكودرما هاريزيانم يليه الباسيلس ستلس والفوتوفور أعلى زيادة في نشاط الشيتينيز وذلك باستخدام الرشة الأولى بينما سجل الترايكودرما هاريزيانم ، الباسيلس ستلس والبسيسيدومونس فلوريسينس أعلى زيادة في النشاط الإنزيمي باستخدام الرشة الثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى .

١-٦- أدت معاملة نباتات الخيار بالمستحاثات الحيوية والغير حيوية المختلفة إلى زيادة في نشاط إنزيم البيتا جلوكانيز في النباتات المعاملة بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) . وقد سجل الباسيلس ستلس ، التوباس ١٠٠ والبوتاسيوم اوكسالات أعلى زيادة في النشاط الإنزيمي باستخدام الرشة الأولى بينما سجل البسيسيدومونس فلوريسينس ، البيون والتوباس ١٠٠ أعلى زيادة في نشاط الجلوكانيز من خلال الرشة الثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى .

١-٧- أوضحت النتائج المتحصل عليها زيادة محتوى النباتات من البروتينات الكلية نتيجة المعاملة بالمستحاثات الحيوية والغير حيوية المختلف بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) . سجل الترايكودرما هاريزيانم والباسيلس ستلس أعلى زيادة في محتوى النباتات من البروتينات الكلية باستخدام الرشة الأولى . بينما سجل البيون والفانجاستوب أعلى زيادة في المحتوى الكلي للبروتينات باستخدام الرشة الثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى .

١-٨- أدت معاملة النباتات بالمستحاثات المختلفة إلى زيادة محتوى النباتات من الكلوروفيل والكاروتين بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) . وقد سجل الفانجاستوب ، البوتاسيوم كلورايد وحامض السيتريك أعلى زيادة في محتوى النبات من الكلوروفيل باستخدام كل من الرشة الأولى والثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى . كما سجل حامض السيتريك ، السالساليك ، الاوكساليك ، البوتاسيوم فوسفات والبوتاسيوم اوكسالات أعلى زيادة في محتوى النبات من الكاروتين باستخدام الرشة

الأولى . وقد سجل البوتاسيوم او كسالات ، حامض السترك والاكساليك ، البيون والترايكودرما هاريزيانم أعلى زيادة في محتوى النباتات من الكاروتين باستخدام الرشة الثانية .

١٠-٩- أوضحت النتائج المتحصل عليها زيادة محتوى النباتات من حامض السالساليك نتيجة المعاملة بالمستحاثات الحيوية والغير حيوية المختلفة خلال الفترات الزمنية المختلفة مقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) . وقد تم اختبار نوعين من المستحاثات الحيوية (الترايكوديرما هاريزيانم والبيسيدومونس فلوريسينس) ونوعين من المستحاثات الغير حيوية (حامض الاوكساليك والبيون) . وقد سجل الترايكودرما هاريزيانم أعلى زيادة في محتوى النباتات من حامض السالساليك بعد ٤ أيام من العدوى وذلك باستخدام كل من الرشة الأولى والثانية . كما سجل البيسيدومونس فلوريسنس أعلى زيادة في محتوى النباتات من حامض السالساليك بعد ٤ أيام من العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد يومين من العدوى باستخدام الرشة الثانية . وقد سجلت المعاملة باستخدام حامض الاوكساليك أعلى زيادة في محتوى النباتات من حامض السالساليك بعد يوم العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد يومين باستخدام الرشة الثانية . كما سجل البيون أعلى زيادة في محتوى النبات من حامض السالساليك بعد ٤ أيام من العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد يومين من العدوى باستخدام الرشة الثانية .

١٠-١٠- أوضحت النتائج المتحصل عليها زيادة في محتوى النباتات من الفيتواليكسينات نتيجة المعاملة بالمستحاثات الحيوية والغير حيوية المختلفة خلال الفترات الزمنية المختلفة بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) . وقد تم استخدام نوعين من المستحاثات الحيوية (الترايكودرما هاريزيانم والبيسيدومونس فلوريسنس) والغير حيوية المختلفة (حامض الاوكساليك والبيون) . سجلت المستحاثات الحيوية (الترايكوديرما هاريزيانم والبيسيدومونس فلوريسنس) زيادة في محتوى النبات من الفيتواليكسينات بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) . وقد سجل الترايكوديرما هاريزيانم زيادة في محتوى النبات من الفيتواليكسينات بعد يومين من العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد يوم من العدوى فقط باستخدام الرشة الثانية بينما سجل البيسيدومونس فلوريسنس زيادة في محتوى النباتات من الفيتواليكسينات خلال الفترات الزمنية المختبرة من خلال الرشة الأولى

والثانية بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) وسجلت أعلى زيادة بعد ٤ أيام باستخدام الرشّة الأولى وبعد يومين باستخدام الرشّة الثانية . وقد سجل حامض الاوكساليك زيادة في محتوى النبات من الفيتواليكسينات خاصة بعد ١ ، ٢ ، ٤ يوم من العدوى بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) وقد سجلت أعلى زيادة بعد ٤ أيام من العدوى باستخدام الرشّة الثانية كما سجل حامض الاوكساليك أعلى زيادة في محتوى النبات من الفيتواليكسينات أعلى زيادة بعد يومين من العدوى بالمقارنة بالفترات الزمنية الأخرى باستخدام الرشّة الثانية . ومن الناحية الأخرى سجل البيون زيادة في محتوى النبات من الفيتواليكسينات خاصة بعد ١ ، ٤ ، ٦ أيام من العدوى بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) وكانت أعلى زيادة بعد يوم من العدوى باستخدام الرشّة الأولى بينما زاد محتوى النباتات من الفيتواليكسينات خاصة بعد ١ و ٤ يوم من العدوى باستخدام الرشّة الثانية بالمقارنة بالكنترول وقد سجل البيون أعلى زيادة في محتوى النبات من الفيتواليكسينات بعد ٤ أيام من العدوى بالمقارنة بالفترات الزمنية الأخرى .

١٠-١١- أدت المعاملة بالمستحاثات الحيوية والغير حيوية المختلفة إلى نقص ملحوظ في محتوى النباتات من حامض الابسيسك باستخدام كل من الرشّة الأولى والثانية بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) . وقد تم استخدام نوعين من المستحاثات الحيوية (الترايكوديرما هاريزيانم والبيسيدومونس فلوريسنس) والغير حيوية المختلفة (حامض الاوكساليك والبيون) . وقد سجل حامض الاوكساليك أعلى نقص في محتوى النبات من حامض الابسيسك بعد ٦ أيام من العدوى باستخدام الرشّة الأولى وبعد يوم من العدوى باستخدام الرشّة الثانية . بينما سجل البيون أعلى نقص في محتوى النباتات من حامض الابسيسك بعد يوم من العدوى باستخدام الرشّة الأولى وبعد ٦ أيام من العدوى باستخدام الرشّة الثانية . من الناحية الأخرى سجل الترايكوديرما هاريزيانم أعلى نقص في محتوى النباتات من حامض الابسيسك بعد يوم من العدوى باستخدام الرشّة الأولى وبعد ٦ أيام من العدوى باستخدام الرشّة بينما سجل البيسيدومونس فلوريسنس أعلى نقص

في محتوى النباتات من حامض الابسيسك بعد ٤ أيام من العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد يوم من العدوى باستخدام الرشة الثانية .

١٠-١٢- أدت معاملة النباتات بالمستحثات الحيوية والغير حيوية المختلفة إلى زيادة في محتوى النباتات من حامض الجبريلك خلال الفترات الزمنية المختلفة بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) . وقد تم اختبار نوعين من المستحثات الحيوية (الترايكوديرما هاريزيانم واليسيدومونس فلوريسنس) والغير حيوية المختلفة (حامض الاوكساليك والبيون) . وقد سجل الترايكوديرما هاريزيانم أعلى زيادة في محتوى النباتات من حامض الجبريلك بعد ٤ أيام من العدوى باستخدام الرشة الأولى والثانية . بينما لم يسجل اليبسيدومونس فلوريسنس زيادة في محتوى النبات من حامض الجبريلك بالمقارنة بالكنترول وذلك باستخدام كل من الرشة الأولى والثانية. من الناحية الأخرى سجلت المعاملات الغير حيوية زيادة في محتوى النباتات من حامض الجبريلك بالمقارنة بالنباتات المصابة (بالكنترول) وقد سجل حامض الاوكساليك أعلى زيادة بعد ٢ يوم من العدوى بعد كل من الرشة الأولى والثانية ، بينما سجل البيون أعلى زيادة من حامض الجبريلك بعد يومين من العدوى بعد الرشة الأولى وبعد يوم من العدوى باستخدام الرشة الثانية . كما أوضحت النتائج عدم وجود حامض جبريلك في النباتات المصابة بالمقارنة بالنباتات السليمة باستخدام الرشة الأولى والثانية .

ثالث عشر : المقاومة المستحثة لمقاومة مرض عفن جذور الفراولة وتأثيراتها الجانبية على الأنشطة الحيوية في التربة .

رسالة مقدمة من السيد / راضي السيد عبد الفتاح للحصول على درجة فلسفة الدكتوراه في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة بمشتهر جامعة بنها عام (٢٠٠٨) تحت إشراف : أ.د. عبد المنعم إبراهيم الفقي ، أ.د. جهاد محمد دسوقي الهباد ، أ.د. محمد السيد حافظ ، أ.د. محمد صلاح الدين فليفل .

استهدفت تلك الدراسة عزل وتعريف الفطريات المسببة لتعفن جذور الفراولة في أربع محافظات مصرية ، اختبار القدرة المرضية للفطريات المعزولة عند مستويات مختلفة من اللقاح ، دراسة ردود فعل بعض أصناف الفراولة ضد الإصابة بتلك الفطريات، دراسة تأثير بعض المستحضرات الكيماوية (حمض السلسيليك ، حمض الأسكوربيك ، حمض البوريك ، كبريتات النحاس ، كبريتات الماغنسيوم ، فوسفات البوتاسيوم الحامضية ، البويون ، الإيثيفون والمبيد ريزولكس-ت) والحيوية (فطر ترايكودرما هاريزيانم ، بكتريا باسيلس ستلس ، سيدوموناس فلوريسنس ، ستربتومايسيس اوروفاشينس ومستحضر شاي الكومبوشا) على نمو وإنبات التراكيب التكاثرية للفطريات المعزولة (في المعمل) والقدرة المرضية لبعض الفطريات ونمو نباتات الفراولة (تحت ظروف الصوبة) وآليات الدفع المستحثة في تلك النباتات فضلاً عن دراسة تأثيرها على تعداد بعض الكائنات الحية والأنشطة الإنزيمية في التربة المنزرعة بالنباتات المعاملة وفيما يلي ملخصاً لأهم نتائج تلك الدراسة :

١. تم الحصول على عدد ٣١٠ عزلة فطرية تنتمي إلى تسعة أنواع فطرية (سكليروشيوم رولفزيي ، ريزوكتونيا سولاني ، ريزوكتونيا فراجاريا ، فيوزاريوم سولاني ، فيوزاريوم اوكسيسبوروم ، ماكروفومينا فاسيولينا ، بيثيوم التيموم ، ألترناريا ، تريكودرما هاريزيانم) وذلك من جذور صنفين من الفراولة تظهر عليها إصابة طبيعية بأعفان الجذر وتم جمعها من مواقع مختلفة تمثل أربع محافظات مصرية وقد تفاوتت تكرارات عزل تلك الفطريات بتفاوت في المحافظات المختلفة وصنف الفراولة المستخدم . تم أيضاً عزل الفطريات سكليروشيوم رولفزيي ، ريزوكتونيا سولاني ، ريزوكتونيا فراجاريا ، ماكروفومينا فاسيولينا ، بيثيوم التيموم ، فيوزاريوم سولاني ، فيوزاريوم

اوكتيسبوروم ، فيوزاريوم سيميتكوم ، فيوزاريوم روزيوم ، ألترناريا ، كيرفيولاريا من جذور شتلات الفريجو صنف كاماروزا بعد ١٥ يوماً من زراعتها في منطقة القليوبية كما تم عزل نفس تلك الفطريات عدا الفطريات ، فيوزاريوم سيميتكوم ، فيوزاريوم روزيوم ، ألترناريا ، كيرفيولاريا عند زراعة تلك الشتلات في منطقة الشرقية .

٢. سببت جميع الفطريات تحت الدراسة إصابة وموت نباتات الفراولة كما زادت نسبة موت النباتات بزيادة مستويات لقاح تلك الفطريات كما سبب الخليط من لقاح تلك الفطريات أعلى معدل موت للنباتات بعد ٢١ يوماً من الزراعة (٥٤,١%) يليه الفطريات سكليروشيوم رولفزياي ، ريزوكتونيا فراجاريا ، ريزوكتونيا سولاني (٤٧,٩%) ، ماكروفومينا فاسيولينا ، فيوزاريوم اوكتيسبوروم (٣٩,٦%) ، فيوزاريوم سولاني (٣١,٢%) ، بيثيوم التيموم (١٦,٦%) على التوالي بينما سبب الفطر سكليروشيوم رولفزياي أعلى معدل موت بعد ٤٥ يوماً من الزراعة (٦٨,٨%) يليه خليط اللقاح (٦٦,٧%) ، ريزوكتونيا فراجاريا (٦٢,٥%) ، ريزوكتونيا سولاني (٦٠,٤%) ، ماكروفومينا فاسيولينا (٥٦,٢%) فيوزاريوم اوكتيسبوروم (٥٠,٠%) ، فيوزاريوم سولاني (٤١,٧%) ثم بيثيوم التيموم (٣٧,٥%) على التوالي .

٣. أظهرت أصناف الفراولة المختبرة درجات متفاوتة من القابلية للإصابة بمسببات عفن الجذور تحت الاختبار وبشكل عام كان الصنف كي ١٤ الأقل قابلية للإصابة يليه الأصناف سويت شارل ، شاندر ، جافوتا ، كاماروزا على الترتيب.

٤. أظهرت الدراسات العملية أن جميع التركيزات المستعملة من كبريتات المغنسيوم لم يكن لها تأثير على نمو جميع الفطريات تحت الدراسة بينما أدى استعمال فوسفات البوتاسيوم الحامضية بتركيز ١٠ ، ١٥ ، ٢٠ ملليمول إلى تثبيط نمو الفطر فيوزاريوم سولاني فقط بمقدار ٢٩,٦ ، ٤٤,٤ ، ٥٩,٢% على التوالي . أيضاً لم يكن لبعض المحثات الكيماوية تأثيرات واضحة على نمو فطريات معينة مثل كبريتات النحاس المستعملة ضد الفطريات ماكروفومينا ، بيثيوم والبويون المستعمل ضد الفطريات سكليروشيوم ، ماكروفومينا ، بيثيوم

وحمض البوريك المستعمل ضد الفطر ماكروفومينا . وفي المقابل سبب بعض المحثات تثبيطاً تاماً لنمو جميع الفطريات مثل المبيد ريزولكس-ت (بتركيز أعلى من ٢٠٠ جزء في المليون) وحمض الساليسليك (أعلى من ١٥ ملليمول) بينما سبب استعمال الإيثيفون بتركيز أعلى من ٢٠٠ جزء في المليون إلى تثبيط نمو الفطريات ماكروفومينا ، بيثيوم ، فيوزاريوم سولاني . وبينما لم يؤثر استعمال حمض الساليسليك بتركيز ٤ ملليمول على نمو الفطر ماكروفومينا فإن نفس هذا التركيز أدى إلى تثبيط نمو الفطريات بيثيوم ، سكليروشيوم بمعدل ٤٣,٣ ، ٨٧,٠ % على التوالي .

٥. كان لفطر التضاد تريكودرما هاريزيانم تأثيرات متفاوتة على نمو الفطريات الممرضة حيث كان الفطر فيوزاريوم سولاني الأكثر تأثراً يليه الفطريات ريزوكتونيا سولاني ، ريزوكتونيا فراجاريا ، ماكروفومينا ، سكليروشيوم ، بيثيوم على التوالي . أما بالنسبة لبكتريا التضاد باسيلس ستلس فقد كان تأثيرها أشد ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني ثم الفطريات سكليروشيوم ، ريزوكتونيا فراجاريا ، ماكروفومينا ، فيوزاريوم سولاني بينما لم يكن لها تأثير واضح على نمو الفطر بيثيوم . أما بكتريا التضاد بسيدوموناس فلوريسنس فقد تثبتت فقط من نمو الفطريات ريزوكتونيا سولاني (٣٣,٧ %) ، سكليروشيوم (٣١,٠ %) ، فيوزاريوم سولاني (١٧,٣ %) وكذلك البكتريا ستربتومايسيس أوروفاشينس تثبتت فقط نمو الفطر فيوزاريوم سولاني (١٨,١ %) ولم يكن لكليهما وكذلك مستحضر شاي الكومبوشا أية تأثير على نمو الفطريات الأخرى .

٦. لم يكن لكبريتات المغنيسيوم أية تأثيرات على إنبات التراكيب التكاثرية للفطريات فيوزاريوم سولاني (جراثيم) وسكليروشيوم رولفزيي (أجسام حجرية) . أيضاً لم تؤثر فوسفات البوتاسيوم الحامضية والبويون على إنبات الأجسام الحجرية فقط . ومن ناحية أخرى أدى استعمال المبيد ريزولكس-ت بتركيزات ٢٠٠ ، ٦٠٠ جزء في المليون إلى تثبيط كامل لإنبات الأجسام الحجرية والجراثيم على التوالي كما أدى استعمال حمض الساليسليك (٢٠ ملليمول) ، كبريتات النحاس (٢٠ ملليمول) والإيثيفون (٨٠٠ جزء في المليون) إلى تثبيط كامل لإنبات الأجسام الحجرية للفطر سكليروشيوم بينما قللت إنبات جراثيم الفطر فيوزاريوم بمعدلات ٤,٤ ، ٢٦,٩ ، ٩,٦ % على الترتيب .

٧. كان فطر التضاد تريكودرما هاريزيانم وبكتريا التضاد بسيدوموناس فلوريسنس الأكثر فاعلية في تثبيط إنبات التراكيب التكاثرية (الأجسام الحجرية والجراثيم) بينما لم يكن لمستحضر شاي الكومبوشا أية تأثير في هذا الخصوص . أيضاً لم يكن للبكتريا ستربتومايسيس اوروفاشينس أية تأثير على إنبات الأجسام الحجرية بينما أثرت جزئياً على إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر فيوزاريوم سولاني . وعموماً كان إنبات الأجسام الحجرية أكثر حساسية وتأثراً بالمحاثات الحيوية المختبرة مقارنة بالجراثيم الكونيدية .

٨. كان نشاط الإنزيمات بيروكسيداز ، بوليفينول أوكسيداز ، كاتاليز ، شيتيناز أعلى في ميسيليومات جميع الفطريات الممرضة المختبرة عنه في رواشح مزارعها كما زاد نشاط تلك الإنزيمات بزيادة فترة التحضين من ٧ إلى ٢١ يوماً كما كان نشاط تلك الإنزيمات أعلى في ميسيليوم ورواشح الفطر سكليروشيوم رولفزيائي يليه الفطريات ريزوكتونيا فراجاريا ، ماكروفومينا ، ريزوكتونيا سولاني ، فيوزاريوم سولاني ، بيثيوم على التوالي .

٩. سببت جميع المحاثات الغير حية (الكماوية) المجربة نقصاً ملحوظاً في النسب المئوية للنباتات الميتة مقارنة بمعاملة الكنترول . وفي هذا الخصوص كانت أفضل النتائج خاصة بعد ٤٥ يوماً من الزراعة مصاحبة لاستعمال حامض الساليسيليك وحامض الأسكوربيك ضد الفطر سكليروشيوم رولفزيائي وكبريتات النحاس وحامض البوريك ضد الفطر ريزوكتونيا فراجاريا وكبريتات النحاس وفوسفات البوتاسيوم ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني . وبشكل عام كان الاستعمال المزدوج لتلك المحاثات الكماوية (غمر جذور + رش المجموع الخضري) أكثر فعالية في تقليل نسبة موت النباتات خاصة الناتجة عن الفطريات سكليروشيوم وريزوكتونيا فراجاريا مقارنة بأي من طريقتي الغمر أو الرش كل على انفراد . أيضاً أدت جميع المحاثات الحيوية المختبرة إلى نقص معنوي في نسبة النباتات الميتة خاصة بعد ٢١ يوماً من الزراعة وكان أفضلها في ذلك الفطر تريكودرما هاريزيانم ثم البكتيريا بسيدوموناس فلوريسنس ، باسيلس ستلس ، شاي الكومبوشا ، ستربتومايسيس اوروفاشينس على التوالي .

١٠. أدت جميع المحثات الكيماوية المجربة إلى زيادة ملحوظة في أطوال ساق وجذر النباتات المعاملة مقارنة بغير المعاملة وقد أعطت طريقة التطبيق المزدوجة لتلك المحثات أفضل النتائج يليها طريقة غمر الجذور ثم طريقة الرش على التوالي وفي هذا الخصوص أعطت معاملة بالإيثيفون أفضل النتائج بينما كانت معاملة البويون الأقل كفاءة في التربة الملوثة بأي من الفطريات سكليروشيوم أو ريزوكتونيا فراجاريا أو ريزوكتونيا سولاني . وبالنسبة للمحثات الحيوية سجلت المعاملة بشاي الكومبوشا أكبر زيادة في طول الساق تلاها المعاملة بالبكتيريا باسيلس ستلس بينما كانت البكتيريا بسيدوموناس فلوريسنس الأقل كفاءة في هذا الخصوص . ومن ناحية أخرى سجل فطر التضاد تريكودرما هاريزيانم أفضل القياسات بالنسبة لطول الجذر يليه البكتيريا باسيلس ستلس ثم بسيدوموناس فلوريسنس بينما سببت المعاملة بشاي الكومبوشا أقل زيادة في طول الجذر مقارنة بمعاملات الكنترول .

١١. سببت المعاملة بالمبيد ريزولكس-ت ، إيثيفون أو فوسفات البوتاسيوم الحامضية بشكل عام أعلى زيادات في الأوزان الغضة للساق والجذر بينما سببت المعاملة بحمض الإسكوريك ضد الفطر سكليروشيوم رولفزيائي ، حمض الساليسيليك ضد الفطريات ريزوكتونيا فراجاريا أو ريزوكتونيا سولاني أقل الزيادات مقارنة بمعاملات الكنترول . وعموماً سجلت طريقة التطبيق المزدوج لفوسفات البوتاسيوم الحامضية ضد الفطر سكليروشيوم ، الإيثيفون ضد الفطر ريزوكتونيا فراجاريا ، الإيثيفون أو البويون ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني أعلى زيادات في الوزن الغض للجذور بينما سجلت أقل الزيادات عند استعمال طريقة الرش بالبويون ضد الفطر سكليروشيوم ، وكبريتات المغنيسيوم ضد الفطر ريزوكتونيا فراجاريا وحمض الساليسيليك ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني . أيضاً سببت جميع المحثات الحيوية المجربة زيادة معنوية في الوزن الغض لكل من الساق والجذر مقارنة بمعاملة الكنترول ولقد سجلت البكتيريا ستربتومييسيس اوروفاشينس وبسيدوموناس فلوريسنس الأفضل في هذا الخصوص يليهما البكتيريا باسيلس ستلس ثم الفطر تريكودرما هاريزيانم أما المعاملة بشكل الكومبوشا خاصة ضد الفطريات ريزوكتونيا فراجاريا وريزوكتونيا سولاني فقد

سببت أقل زيادة في الوزن الغض للساق بينما قلت من الوزن الغض للجذور مقارنة بمعاملة الكنترول .

١٢. أدى استعمال طريقة التطبيق المزدوج للإيثيفون (ضد أي من الفطريات الممرضة تحت الدراسة) إلى أعلى زيادة في الوزن الجاف لكل من الساق والجذر مقارنة بمعاملة الكنترول . أيضاً أدى استعمال المحثات الحيوية إلى زيادة الوزن الجاف لكل من الساق والجذر وبغض النظر عن نوعية الفطر الممرض سببت البكتيريا ستربتومييسيس أوروفاشينس وبسيدوموناس فلوريسنس أعلى زيادة في هذا الخصوص يليهما البكتيريا باسيلس ستلس والفطر تريكودرما هاريزيانم بينما سببت المعاملة بشاي الكومبوشا أقل زيادة في الوزن الجاف للجذور ولم يكن لها أية تأثيرات معنوية على الوزن الجاف للساق مقارنة بمعاملة الكنترول .

١٣. أدت المعاملة بمعظم المحثات الكيماوية المجربة إلى زيادة معنوية في نسبة المادة الجافة بكل من الساق والجذر مقارنة بمعاملات الكنترول . وبغض النظر عن المسببات المرضية أدت طريقة التطبيق المزدوج بالإيثيفون إلى أعلى زيادة في نسبة المادة الجافة بالساق بينما كانت أعلى زيادة للمادة الجافة بالجذور مصاحبة لاستعمال نفس طريقة التطبيق المزدوج ولكن بكبريتات النحاس (ضد الفطريات سكليروشيوم ، ريزوكتونيا سولاني) أو الإيثيفون (ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني) . أما بالنسبة للمحثات الحيوية فقد سببت المعاملة بالبكتيريا ستربتومييسيس أوروفاشينس وبسيدوموناس فلوريسنس أعلى زيادات في نسب المادة الجافة بالساق والجذور . وقد سبب شاي الكومبوشا أقل زيادة معنوية لنسبة المادة الجافة بالجذور بينما قللتها معنوياً في الساق مقارنة بمعاملة الكنترول .

١٤. أدت جميع المحثات الكيماوية المجربة (فيما عدا استثناءات قليلة) إلى زيادة ملحوظة في محتوى الساق والجذر من السكريات مقارنة بالكنترول . وعموماً فقد أدى استعمال المبيد ريزولكس-ت ضد أي من الفطريات الممرضة تحت الاختبار إلى أعلى زيادة في السكريات الكلية (المختزلة وغير المختزلة) بالساق بينما أدى استعمال حمض الساليسيليك بطريقة التطبيق المزدوج إلى أعلى زيادة

في هذه السكريات بال جذور . أيضاً أدى استعمال المحتثات الحيوية المجربة إلى زيادة هذه السكريات بكل من الساق والجذر مقارنة بالكنترول وكانت المعاملة بالفطر تريكودرما هاريزيانم أو البكتيريا بسيدوموناس فلوريسنس الأفضل في هذا الخصوص يليهما البكتيريا باسيلس ستلس ، شاي الكومبوشا ثم البكتيريا ستربتوميسيس أوروفاشينس .

١٥. كان لاستعمال المحتثات الكيماوية وكذلك طريقة التطبيق المستعملة تأثيرات متفاوتة على محتوى الساق والجذر من المواد الفينولية الحرة . ففي التربة الملوثة بالفطر سكليروشيوم رولفزيي زادت الفينولات الحرة باستعمال المبيد ريزولكس-ت ، الإيثيفون ، حمض الساليسيليك وحمض الأسكوربيك فقط بينما أنقصتها باقي المحتثات وقد لوحظ نفس السلوك في التربة الملوثة بالفطريات ريزوكتونيا فارجاريا أو ريزوكتونيا سولاني (عدا استثناءات قليلة) . أيضاً أدى استعمال المحتثات الحيوية ضد الفطر سكليروشيوم (عدا البكتيريا ستربتوميسيس أوروفاشينس وشاي الكومبوشا) إلى زيادة الفينولات الحرة في الساق بينما أدى استعمال البكتيريا باسيلس ستلس ضد الفطر ريزوكتونيا فارجاريا إلى أكبر زيادة في محتوى الجذور من الفينولات الكلية والحرة والمرتبطة وكذلك محتوى الساق من الفينولات الكلية والحرة .

١٦. أدى استعمال جميع المحتثات الكيماوية عدا البويون ، حمض البوريك أو الإيثيفون ضد أي من الفطريات الممرضة تحت الدراسة وكذلك فوسفات البوتاسيوم ضد الفطر سكليروشيوم إلى زيادة واضحة في كمية الأحماض الأمينية بالساق والجذر . وفي جميع الأحوال كانت كمية الأحماض الأمينية الكلية أعلى عند استخدام طريقة التطبيق المزدوج مقارنة بطريقة غمر الجذور أو رش المجموع الخضري كما سببت كبريتات النحاس بشكل عام أكبر زيادة في هذا الخصوص يليها استعمال حمض الأسكوربيك ضد الفطريات سكليروشيوم وريزوكتونيا فارجاريا وكبريتات المغنيسيوم ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني . أيضاً أدت جميع المحتثات الحيوية المجربة ضد أي من الفطريات الممرضة إلى زيادة الأحماض الأمينية الكلية بالجذر والساق مقارنة بالكنترول (الغير معاملة) . وبشكل عام كانت البكتيريا باسيلس ستلس الأكثر فعالية بينما كان شاي الكومبوشا الأقل فعالية في هذا الخصوص .

١٧. أدى استعمال بعض المحتثات الكيماوية إلى تحفيز بناء أحماض أمينية جديدة مثل البرولين (حمض الساليسيليك ، حمض البوريك ، حمض الأسكوربيك وكبريتات النحاس) ، فينايل ألانين (حمض البوريك ، فوسفات البوتاسيوم الحامضية ،

البويون والإيثيفون) ، تربتوفان (حمض البوريك ، كبريتات المغنيسيوم) ، فالين ، ليوسين ، لايسين (حمض البوريك) . لوحظ نفس الشيء عند استعمال المحثات الحيوية مثل تحفيز تكون الحمض الأميني سيرين عند استخدام البكتيريا باسيلس ستلس والأحماض الأمينية هستيدين ، أرجنين ، برولين ، فينيل ألانين التي تكونت فقط عند استعمال شاي الكومبوشا . أيضاً حفزت البكتيريا ستربتومييسيس أوروفاشينس وكذلك شاي الكومبوشا تكون الأحماض الأمينية ميثيونين ، فالين ، تربتوفان .

١٨. أدت جميع المحثات الكيماوية المجربة إلى زيادة محتوى الجذور من اللجنين مقارنة بمعاملة الكنترول . وبشكل عام أدت طريقة التطبيق المزدوج لحمض الساليسيليك ضد الفطريات ريزوكتونيا فارجاريا أو ريزوكتونيا سولاني إلى أعلى زيادة في المحتوى اللجنيني يليه استعمال حمض الأسكوربيك ثم المبيد ريزولكس-ت على الترتيب . أيضاً أدت جميع المحثات الحيوية المجربة وبغض النظر عن المسببات المرضية تحت الاختبار إلى زيادة محتوى الجذور من اللجنين وكانت البكتيريا باسيلس ستلس الأكثر فعالية في هذا الخصوص يليها البكتيريا بسيدوموناس فلوريسنس ، ستربتومييسيس أوروفاشينس ، تريكودرما هاريزيانم ثم شاي الكومبوشا على التوالي .

١٩. سببت جميع المحثات الكيماوية والحيوية المجربة ضد الفطر سكليروشيوم رولفزيائي إلى زيادة واضحة في محتوى جذور النباتات المعاملة من حامض الساليسيليك والفيتوالكسينات (الأيزوفلافونات) بالمقارنة مع جذور نباتات الكنترول . وبالنسبة للمحثات الكيماوية كان حمض الساليسيليك والمبيد ريزولكس-ت الأكثر فعالية هذا الخصوص يليها أحماض البوريك والأسكوربيك ثم الإيثيفون وكبريتات النحاس على التوالي . أما بالنسبة للمحثات الحيوية فقد كان الفطر تريكودرما هاريزيانم الأكثر تحفيزاً لتكوين تلك المركبات يليه البكتيريا بسيدوموناس فلوريسنس ، باسيلس ستلس ، ستربتومييسيس أوروفاشينس ثم شاي الكومبوشا على التوالي .

٢٠. سبب استعمال المحثات الكيماوية المجربة بطريقة التطبيق المزدوج زيادات واضحة في نشاط إنزيم بيروكسيداز في الجذر والساق مقارنة بطريقة غمر الجذور أو رش المجموع الخضري . وقد سببت المعاملة بحمض الأسكوربيك (ضد أي من الفطريات الممرضة تحت الدراسة) أعلى نشاط لهذا الإنزيم في الساق بينما سبب استعمال كبريتات النحاس ضد الفطر سكليروشيوم رولفزيائي وحمض الأسكوربيك ضد الفطر ريزوكتونيا فارجاريا وكبريتات النحاس أو المبيد ريزولكس-ت ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني أعلى نشاط له في الجذور .

أيضاً زاد نشاط هذا الإنزيم بالجذر والساق نتيجة المعاملة بالمحاثات الحيوية وكانت البكتيريا باسيلس ستلس ، ستربتومييسيس أوروفاشينس الأكثر فعالية لزيادة نشاط الإنزيم في الساق والجذر على الترتيب .

٢١. كان للمعاملة بالمحاثات الكيماوية تأثيرات متفاوتة على نشاط الإنزيم بولي فينول أوكسيداز بالجذر والساق حيث أدت معظم المعاملات إلى تقليل نشاط هذا الإنزيم بكل من الساق والجذر فيما عدا كبريتات المغنيسيوم ، وأحماض الساليسيليك والأسكوربيك (ضد أي من الفطريات الممرضة) وكذلك حمض البوريك والإيثيفون (سكليروشيوم رولفزيائي) ، فوسفات البوتاسيوم الحامضية (ريزوكتونيا فراجاريا) التي أدت إلى زيادة نشاطه في الساق وكبريتات المغنيسيوم (سكليروشيوم رولفزيائي) وحمض الساليسيليك (ريزوكتونيا فراجاريا) التي أدت إلى زيادة نشاطه بالجذور . أما بالنسبة للمحاثات الحيوية فقد زاد نشاط هذا الإنزيم في الساق فقط نتيجة استعمال البكتيريا باسيلس ستلس (ضد أي من الفطريات الممرضة المختبرة) وكذلك بسيدوموناس فلوريسنس ، ستربتومييسيس أوروفاشينس ضد الفطريات ريزوكتونيا فراجاريا وريزوكتونيا سولاني بينما قلل الفطر تريكودرما هاريزيانم وشاي الكومبوشا من هذا النشاط مقارنة بمعاملة الكنترول . هذا وقد لوحظت تأثيرات مماثلة لتلك المحاثات الحيوية على نشاط هذا الإنزيم بالجذور .

٢٢. سببت جميع المحاثات الكيماوية المجربة زيادة واضحة في نشاط الإنزيم شيتيناز بالجذر والساق خاصة عند استعمال طريقة التطبيق المزدوج مقارنة بالكنترول غير المعامل أو بطرق غمر الجذور أو رش المجموع الخضري . أيضاً أدى استعمال جميع المحاثات الحيوية المجربة إلى زيادة نشاط هذا الإنزيم في الساق . وبغض النظر عن المسببات الممرضة سبب الفطر تريكودرما هاريزيانم أعلى زيادة في نشاط هذا الإنزيم في الساق يليه بسيدوموناس فلوريسنس ، باسيلس ستلس ، ستربتومييسيس أوروفاشينس ثم شاي الكومبوشا على التوالي . أما نشاطه في الجذور فقد زاد فقط نتيجة استعمال الفطر تريكودرما هاريزيانم والبكتيريا بسيدوموناس فلوريسنس ، ستربتومييسيس أوروفاشينس .

٢٣. أدت جميع المحاثات الكيماوية المجربة خاصة عند استخدام طريقة التطبيق المزدوج إلى زيادة مستوى نشاط الإنزيم بيتا-جلوكاناز في الساق والجذر مقارنة بالكنترول . وكانت فوسفات البوتاسيوم الحامضية والمبيد ريزولكس-ت وحمض الأسكوربيك الأكثر فعالية في هذا الخصوص . أيضاً كان لاستعمال المحاثات الحيوية المجربة ضد أي من الفطريات الممرضة تحت الدراسة تأثيرات مماثلة على نشاط هذا الإنزيم حيث سبب الفطر تريكودرما هاريزيانم أعلى نشاط

للإنزيم في الساق يليه البكتيريا بسيدوموناس فلوريسينس ، باسيلس ستلس ، ستربتوميسيس أروفاشينس ثم شاي الكومبوشا على الترتيب . أيضاً سببت معظم تلك المحثات الحيوية خاصة الفطر تريكودرما هاريزيانم زيادة نشاط الإنزيم في الجذور بينما لوحظ قلة النشاط عند استعمال البكتيريا باسيلس ستلس ضد أي من المسببات الممرضة تحت الدراسة وكذلك البكتيريا بسيدوموناس فلوريسينس ضد الفطر سكليروشيوم رولفزيي وشاي الكومبوشا ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني .

٢٤. أدت استعمال المحثات الكيماوية المجربة ضد المسببات الممرضة تحت الدراسة خاصة المبيد ريزولكس-ت وحمض الساليسيليك والبويون إلى زيادة واضحة في نشاط الإنزيمات ديهيدروجيناز ، سيلولاز ، فوسفاتاز في التربة المنزرعة بالنباتات المعاملة بعد ٨ يوم من الزراعة مقارنة بتربة نباتات المقارنة الغير معاملة أو بعد ٣٠ يوماً من الزراعة وكذلك باستخدام طريقة التطبيق المزدوج مقارنة بطرق غمر الجذور أو رش المجموع الخضري بتلك المحثات . وكان للمحثات الحيوية المجربة تأثيرات مماثلة على نشاط تلك الإنزيمات . وبشكل عام كانت البكتيريا باسيلس ستلس (ضد أي من المسببات الممرضة تحت الدراسة) الأكثر تحفيزاً لنشاط إنزيمات ديهيدروجيناز وفوسفاتاز في التربة بينما كانت البكتيريا ستربتوميسيس أروفاشينس الأكثر فعالية لزيادة نشاط إنزيم سيلولاز في التربة .

٢٥. أدت معاملة النباتات بجميع المحثات الكيماوية والحيوية المجربة ضد المسببات الممرضة تحت الدراسة إلى زيادة تعداد الكائنات الدقيقة في التربة المنزرعة بها تلك النباتات حيث لوحظت زيادات مضطربة بمرور الوقت بعد الزراعة في التعداد الكلي لميكروبات التربة ، فطريات التربة ، البكتيريا ، الأكتينومييسيتات ، الأزوتوباكتر ، بكتيريا النترة والبكتيريا المتجترمة بدرجات متفاوتة تبعاً لنوع المحث المستعمل (كيماوي أو حيوي) وكذلك طريقة المعاملة ونوع الفطر الممرض وفي جميع الحالات كان تعداد تلك الكائنات أكبر بعد ٣٠ ، ٦٥ يوماً من زراعة النباتات المعاملة في حالة المحثات الكيماوية والحيوية على الترتيب مقارنة بتعدادها بعد ٨ يوم من الزراعة .

٢٦. أدت جميع المحثات الكيماوية والحيوية المجربة تحت ظروف الحقل خلال موسمي ٢٠٠٤ ، ٢٠٠٥ إلى نقص معنوي في نسبة موت النباتات المقدرة بعد ٢١ ، ٤٥ يوماً من الزراعة في كلا الموسمين بالمقارنة مع معاملات الكنترول . وفي هذا الخصوص كان المبيد ريزولكس-ت أفضل المعاملات في خفض نسبة

موت النباتات (بعد ٢١ و ٤٥ يوماً) في موسم ٢٠٠٤ يليه حمض الساليسيليك وحمض الأسكوربيك (بعد ٢١ يوماً) وحمض البوريك وحمض الأسكوربيك وحمض الساليسيليك (بعد ٤٥ يوماً) . أما في الموسم ٢٠٠٥ فقد كان المبيد ريزولكس-ت أفضل المعاملات بعد ٢١ يوماً يليه كبريتات النحاس وحمض الأسكوربيك . وبشكل عام كانت طريقة التطبيق المزدوج لتلك المحثات أكثر فعالية في خفض نسبة موت النباتات مقارنة بطريقتي غمر الجذور أو رش المجموع الخضري على التوالي . أيضاً أدت المعاملة بجميع المحثات الحيوية المجربة إلى نقص معنوي في نسبة موت النباتات المقدرة بعد ٢١ و ٤٥ يوماً من الزراعة وكان الفطر تريكودرما هاريزيانم الأكثر فعالية في هذا الخصوص يليه البكتيريا ستربتومييسيس أوروفاشينس ، باسيلس ستلس ، بسيدوموناس فلوريسينس ثم شاي الكومبوشا على الترتيب .

٢٧. أيضاً أدت جميع المحثات الكيماوية والحيوية المجربة تحت ظروف الحقل خلال موسمي ٢٠٠٤ ، ٢٠٠٥ إلى زيادة معنوية في محصول ثمار الفراولة في كلا الموسمين بالمقارنة مع معاملات الكنترول وكان المبيد ريزولكس-ت أفضل المعاملات في كلا الموسمين يليه حمض الأسكوربيك ، حمض الساليسيليك وكبريتات النحاس في الموسم ٢٠٠٤ وحمض البوريك وحمض الأسكوربيك وكبريتات المنجنيز على التوالي في الموسم ٢٠٠٥ بينما أنتجت المعاملة بالإيثيفون والبويون أقل زيادة في محصول الثمار في كلا الموسمين مقارنة بالكنترول وفي جميع الأحوال كان المحصول الأعلى من الثمار مصاحباً لاستعمال طريقتي رش المجموع الخضري أو غمر الجذور بدون فروق معنوية بينهما بينما كانت طريقة رش المجموع الخضري الأفضل في الموسم الثاني يليها طريقة غمر الجذور ثم طريقة التطبيق المزدوج على الترتيب . أيضاً أدت المعاملة بجميع المحثات الحيوية المجربة إلى زيادة معنوية في محصول الثمار في كلا الموسمين مقارنة بمعاملات الكنترول وكانت المعاملة بالبكتيريا ستربتومييسيس أوروفاشينس أو الفطر تريكودرما هاريزيانم الأفضل لزيادة المحصول في كلا الموسمين يليهما البكتيريا باسيلس ستلس ، بسيدوموناس فلوريسينس ثم شاي الكومبوشا على الترتيب .

رابع عشر : "دراسات على بعض النباتات الطبية كمصدر للمضادات الفطرية في شمال أفريقيا" .

رسالة مقدمة من الطالب / أحمد علي عبد الباقي للحصول على درجة الماجستير في الدراسات الإفريقية - الموارد الطبيعية (أمراض نبات) عام ١٩٩٩ تحت إشراف : أ.د. مصطفى إمام محمود ، أ.د. عرفة عبد الجليل هلال ، أ.د. خيرى عبد المقصود عبادة .

تهدف الدراسة إلى البحث في النباتات الطبية الموجودة في القارة الإفريقية عامة وفي جمهورية مصر العربية بصفة خاصة عن مصادر جديدة يمكن بها مقاومة بعض مسببات أمراض المحاصيل الهامة في القارة مثل القطن الذي يصاب بالذبول وموت البادرات ... الخ . وقد توصلت الدراسة إلى النقاط الآتية :

١. كان للمواد المتطايرة من البراعم الزهرية لنبات القرنفل أكبر الأثر في تثبيط النمو الميسيليومي لفطري فيوزاريوم اكسيسبوريوم فازنفكتم وريزوكتونيا سولاني وتلى ذلك تأثير كل من بذور الكمون والينسون ثم أعشاب البردقوش .
٢. لم يكن هناك تأثير لأوراق نبات الكرات على النمو الميسيليومي لكل من الفطرين، كذلك لم يكن هناك تأثير لبذور الكذبرة على الفطر فيوزاريوم اكسيسبوريوم فازنفكتم .
٣. الزيوت الطيارة لكل من نباتات القرنفل والينسون والكرابية والكمون والشمر والنعناع الياباني تثبطت تماماً النمو الميسيليومي لكل من الفطرين المختبرين .
٤. زيوت كل من نباتات حبة البركة والكزبرة كانت أقل تأثيراً من باقي الزيوت حتى عندما استخدمت بأوزان كبيرة .
٥. كان تأثير الزيوت الطيارة لكل من نباتات القرنفل والكمون قوياً وثبطت النمو الميسيليومي لكل من الفطرين بقوة حتى عندما استخدمت بأوزان قليلة تلاهما زيوت النعناع الياباني ثم الينسون فالكرابية .
٦. التأثير التثبيطي للزيوت الطيارة للنباتات المختبرة كان يزداد بزيادة الأوزان المستخدمة من الزيت .
٧. أقل تركيز أحدث تثبيطاً لنمو الفطرين تحت الاختبار كان ١٠٠٠ جزء في المليون لكل من زيوت الينسون والقرنفل والكمون ، كان ٢٠٠٠ جزء في المليون لزيت النعناع الياباني ثم ٣٠٠٠ جزء في المليون لزيت البردقوش .
٨. العصير النباتي لكل النباتات المختبرة أظهر نشاطاً تثبيطياً تجاه الفطرين تحت الاختبار عدا مستخلصات حبة البركة والخروع والكرات بالنسبة للفطر فيوزاريوم اكسيسبوريوم فازنفكتم ، والخروج بالنسبة للفطر ريزوكتونيا سولاني .

٩. المستخلص المائي البارد والساخن للبراعم الزهرية للقرنفل كانت أقوى تأثيراً من باقي النباتات المستخدمة .
١٠. المستخلص المائي الساخن لنباتات الكافور والبردقوش والينسون والريحان تلت المستخلص المائي الساخن للقرنفل في تثبيط النمو الميسيليومي للفطرين .
١١. النشاط التثبيطي لكل من المستخلصات المائية الباردة والساخنة للنباتات المختبرة كان يزداد بزيادة تركيز استخدامها من ٢٥ - ٧٥% للمستخلص البارد ، ٢٥ - ١٠٠% للمستخلص الساخن .
١٢. كان لمستخلص المذيبات العضوية لنباتات الينسون والكافور والكرابية والقرنفل والكزبرة والكمون والشمر والنعناع الياباني والبردقوش والبرنوف نشاطاً تثبيطياً تجاه كل من الفطرين المختبرين أكثر من مستخلص المذيبات لكل من حبة البركة والخروع والكرات .
١٣. المستخلص العضوي لنباتي القرنفل والكمون أظهر تأثيراً قوياً ضد النمو الميسيليومي للفطرين حيث أعطيا نسبة تثبيط ١٠٠% تلاهما المستخلص العضوي لنبات الينسون .
١٤. المستخلصات النباتية بواسطة الأسيتون كانت أكثر تأثيراً من المستخلصات النباتية بواسطة الاثير البترولي .
١٥. استخدمت إفرازات البذور والجذور لكل من نباتي البردقوش والريحان كمواد مثبطة للنمو الميسيليومي للفطرين ووجد أن إفرازات بذور وجذور الريحان كانت أكثر تثبيطاً من إفرازات بذور وجذور البردقوش في حين كانت إفرازات جذور البردقوش أفضل من إفرازات جذور الريحان .
١٦. وجد أن أفضل معدل لزيادة إنبات بذور القطن باستخدام بودرة التلك المحملة بالزيت هو ٢٠ جم بودرة لكل كيلوجرام بذرة قطن بالنسبة لزيوت الينسون والكمون والبردقوش ، وكان ١٠ جم بودرة تلك محملة بالزيت بالنسبة للقرنفل وذلك لكل كجم بذرة قطن .
١٧. وجد أن نقع بذور القطن في العصير النباتي لنباتات الكمون والقرنفل والينسون أدت إلى زيادة إنبات بذور القطن زيادة معنوية .
١٨. وجد أن النسبة المئوية لإنبات بذور القطن تقل بزيادة فترة النقع في المستخلص المائي من نصف ساعة إلى ساعة وذلك للمستخلصات الباردة المستخدمة .
١٩. وجد أن معاملة بذور القطن بالزيوت الطيارة المحملة على بودرة التلك كبديل للمبيدات الكيماوية كان له أثر واضح في تقليل نسبة الإصابة بالذبول والخناق تحت ظروف الصوبة .

خامس عشر : "دراسات على النشاط التثبيطي للنباتات المختلفة ضد بعض المسببات المرضية"

رسالة مقدمة من السيد / محمد أحمد محمد بيومي للحصول على درجة العالمية (دكتوراه الفلسفة) في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من قسم النبات الزراعي - كلية الزراعة جامعة الأزهر عام ١٩٩٧ .

تهدف الدراسة إلى الكشف عن المواد ذات الأصل النباتي المثبطة لنمو الكائنات الممرضة بين أكبر عدد من النباتات الطبية والعطرية .. وغيرها ، وإمكانية استخدامها كبدايل للمبيدات الكيميائية حفاظاً على البيئة من التلوث وتحقيقاً لمطلب السوق الدولية في تداول منتجات زراعية غير معاملة بالمبيدات الكيميائية .

وقد توصلت الدراسة إلى نتائج أبرزها ما يلي :

١. تمتلك المواد الطيارة المنبعثة من بذور الكمون تليها أعشاب الزعتر فبذور الينسون فالبراعم الزهرية للقرنفل فأوراق حشيشة الليمون أعلى قدرة تثبيطية على النمو الميسيليومي لجميع الفطريات المختبرة .

٢. ثبطت أبخرة الزيوت الطيارة للكمون والزعتر النمو الميسيليومي تثبيطاً كاملاً لجميع الفطريات المختبرة ، أما أبخرة زيوت الينسون وحشيشة الليمون فقد ثبطت بالكامل نمو أغلب هذه الفطريات .

٣. ثبط الزيت الطيار لنبات الزعتر النمو الميسيليومي تثبيطاً كاملاً لجميع الفطريات المختبرة ، بينما أعطت زيوت الكمون والينسون والقرنفل نفس النتيجة ضد أغلب هذه الفطريات .

٤. كانت أكثر الزيوت الطيارة تثبيطاً لإنبات جراثيم الفيوزاريوم هي على الترتيب زيوت الزعتر وحشيشة الليمون والكمون والينسون .

٥. كانت زيوت الزعتر والينسون أفضل الزيوت تثبيطاً لإنبات الأجسام الحجرية لفطري الريزوكتونيا والماكروفومينا .

٦. ثبطت جميع المستخلصات المائية المستخدمة للنمو الفطري لواحد أو أكثر من الفطريات المختبرة ، ولوحظ أن التأثير المثبط يزداد بزيادة تركيز المستخلص ، وكان مستخلص القرنفل عند تركيز ٢٥% هو المؤثر وحده ضد نمو جميع الفطريات تحت الاختبار ، بينما أضيف إليه مستخلص الينسون في تأثيره المثبط لجميع الفطريات عند التركيز ٧٥% .

٧. كان المستخلص المائي الساخن لبذور الينسون وعشب الزعتر والبراعم الزهرية للقرنفل وسبلات الكركديه فعالاً تماماً ضد نمو جميع الفطريات تحت الاختبار . لم يظهر للمستخلص المائي الساخن لليوفوريا والزولخت أي تأثير مثبت ضد النومات الفطرية .

٨. أثر الزيت الطيار للزعتر كمبيد فطري ضد نمو كل من الفيوزاريوم فزانفكتم والفيوزاريوم مونيليفورم ، الرايزوكتونيا سولاني ، الفيتوفثورا نيكوتيانا بارازيتيكا . كما أثر الزيت الطيار للكمون كمبيد فطري أيضاً ضد نمو الفطر فيوزاريوم مونيليفورم . أما بقية الزيوت الطيارة المستخدمة فقد كان تأثيرها موقفاً للنمو الفطري فقط .

٩. أثرت الزيوت الطيارة لكل من الزعتر والكمون والينسون والبردقوش كمواد قاتلة ضد الأجسام الحجرية المختبرة ، بينما أثرت الزيوت الطيارة لكل من النعناع الياباني والفلية والريحان الحلو والعتر كمواد مثبطة فقط لإنبات الأجسام الحجرية السابقة .

١٠. سبب المنقوع المائي لكل من الكمون والقرنفل والكركديه والينسون والزعتر عند التركيز ٧٥% تثبيطاً تاماً لنمو فطر الفيوزاريوم مونيليفورم والرايزوكتونيا سولاني والفيتوفثورا نيكوتيانا بارازيتيكا .

١١. أدت تغطية البذور بتركيزات من الزيوت النباتية إلى تطهيرها من الفطريات المحمولة وزيادة نسبة إنباتها وكذا زيادة طول الجذر الناتج ، وكان أفضل تركيز عند استخدام زيوت الكمون والبردقوش والينسون محملاً على بودرة التلك هو ٢٠ جم/كجم بذرة بينما كان أفضل تركيز عند استخدام زيوت القرنفل والزعتر هو ١٠ جم/كجم بذرة .

١٢. أدى نقع البذور في المستخلص المائي لكل من الكمون والقرنفل والكركديه والينسون والزعتر عند التركيز ٥٠% لمدة نصف ساعة إلى أفضل النتائج بالنسبة لتطهير البذور المعاملة من الفطريات المحمولة وكذا زيادة نسبة الإنبات وطول الجذر .

١٣. في تجربة أطباق تحت الظروف المعملية أدت تغطية البذور بالزيوت النباتية المحملة على بودرة التلك لكل من الكمون والقرنفل والبردقوش والينسون والزعتر إلى زيادة نسبة وقاية البذور من مهاجمة الفطريات . كما أدى نقع البذور في أي من المستخلصات المائية النباتية إلى ظهور مناطق تثبيط للنمو الفطري المحيط بها .

١٤. أدت تغطية البذور بمستحضرات الزيوت الطيارة إلى تقليل نسبة سقوط البادرات قبل وبعد الإنبات الناتجة عن الفطر ماكروفيومينا فاسولينا وذلك بالنسبة لبادرات فول الصويا وعباد الشمس ، والناتجة عن الفطر رايزوكتونيا سولاني وذلك بالنسبة لبادرات القطن وعباد الشمس والكركديه ، وكذا الناتجة عن فطر فيتوفثورا نيكوتيانا بارازيتيكا ضد بادرات الكركديه .

سادس عشر : "دراسات على ظاهرة المقاومة المكتسبة للمبيدات الفطرية في بعض الفطريات المسببة لأعفان جذور الفاصوليا".

رسالة مقدمة من السيد / سامي حسين مصطفى حسين للحصول على درجة الماجستير في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من قسم أمراض النبات - كلية الزراعة جامعة القاهرة عام ١٩٩٧ .

يعتبر محصول الفاصوليا واحداً من أهم محاصيل الخضر في مصر ، حيث بلغت المساحة المنزرعة سنة ١٩٩٥ حوالي ٤٠ ألف فدان أنتجت حوالي ١٦٥٥٦٧ طن . ويصاب نبات الفاصوليا عادة بعدد من الأمراض مثل أعفان السوق ، وأعفان الجذور والتي تسببها عديد من فطريات التربة . وتعتمد مقاومة هذه الأمراض على استخدام المبيدات الفطرية في معاملة البذور أو التربة ، إلا أن أهم المشاكل التي تواجه المقاومة الكيماوية عامة هو قدرة المسبب المرضي على إنتاج سلالات مقاومة للمبيدات المستخدمة خاصة تلك التي يتقرر استخدامها في نفس المكان لعدة مواسم . ولقد استهدفت هذه الدراسة التعرف على إمكانية المسببين المرضيين (ماكروفومينا فاسيولينا) و (سكليروشيوم رولفزياي) في إنتاج سلالات مقاومة لبعض المبيدات الفطرية ، مع دراسة مستويات المقاومة والعوامل المؤثرة على حدوث المقاومة المكتسبة للمبيدات الفطرية .

ويمكن إيجاز النتائج المتحصل عليها في الآتي :

١. أسفر العزل من جذور نباتات فاصوليا مصابة بالعفن عن عزل ٨٢ عزلة فطريات . وقد تم تنقية هذه الفطريات وعرفت على أنها : أنواع من الجنس فيوزاريوم ، الفطر ماكروفومينا فاسيولينا ، أنواع من الجنس بيثيم ، الفطر ريزوكتونيا سولاني ، الفطر سكليروشيوم رولفزياي . بالإضافة لذلك لم يكن هناك فرق كبير في تكرار وتواجد العزلات الفطرية المتحصل عليها بسبب اختلاف مكان جمع العينات المصابة .
٢. تم إجراء تجربة القدرة المرضية للفطريات المعزولة ووجد أن جميعها كان ممرضاً لنباتات الفاصوليا صنف جيزة ٣ ، وكان الفطرين سكليروشيوم رولفزياي ، ماكروفومينا فاسيولينا أكثرهم مرضية ولذلك يتم استخدام عزلات مختلفة منها في هذه الدراسة .
٣. تم عزل ١٠ عزلات من الفطر سكليروشيوم رولفزياي ، ٤ عزلات من الفطر ماكروفومينا فاسيولينا وقد تم إعطاء كل عزلة من هذه العزلات رقما كوديا . وعند إجراء تجربة القدرة المرضية لعزلات كل فطر فقد وجد أن العزلات SI₃ SSH₃ كان الأكثر مرضية بالنسبة للفطر سكليروشيوم رولفزياي أما العزلة MG₂ فكانت الأكثر مرضية بالنسبة للفطر ماكروفومينا فاسيولينا .

٤. أظهرت العشر عزلات الخاصة بالفطر اسكليروشيم رولفزيای درجات مختلفة بالنسبة لمقاومتها للمبيدات الفطرية المختبرة وهي بنليت ، ريزولكس ، مونسرین . كانت قيم (EC50) التركيز المثبط لنمو ٥٠% من النمو الفطري متباينة بسبب اختلاف العزلة الفطرية وكذلك المبيد الفطري المستخدم .

٥. أيضاً فقد أظهرت الأربع عزلات المختبرة للفطر ماكروفومينا فاسيولينا اختلافات كبيرة بالنسبة لمقاومتها للمبيدات الفطرية المختبرة وكذلك قيم EC50 .

٦. بدراسة الـ Cross resistance بين المبيدات الفطرية الثلاثة البنليت والريزولكس والمونسرین تبين عدم حدوث هذه الظاهرة مع عزلات الفطر سكليروشيم رولفزيای أو حدوثها بدرجة ضعيفة جداً ، بينما أظهرت عزلات الفطر ماكروفومينا فاسيولينا نتائج إيجابية بين المبيدات الفطرية الثلاثة فيما يخص هذه الظاهرة .

٧. عند دراسة تأثير التعريض المتكرر للفطر سكليروشيم رولفزيای للمبيدات الفطرية البنليت والريزولكس والمونسرین على اكتساب المقاومة وتطورها فقد تم تنمية الفطر لـ ٧ أجيال متعاقبة على بيئة مغذية تحتوى على تركيزات متدرجة لكل مبيد ، فقد تبين حدوث نقص فى معدل التثبيط للمبيدين الفطريين البنليت والريزولكس مع تكرار تعاقب الأجيال ، فقد انخفض معدل التثبيط لتركيز ٤٠٠ جزء فى المليون لمادة البينوميل (المادة الفعالة لمبيد البنليت) من ٨٦,٦٧% فى الجيل الأول إلى ٥,٩٣% فى الجيل السابع ونتيجة لذلك ارتفع التركيز اللازم لقتل ٥٠% من النمو الفطري من ٢٣٢,٥٥ جزء فى المليون فى الجيل الأول إلى ٨٣٠,٧٧ جزء فى المليون فى الجيل السابع ، وارتفع كذلك عامل المقاومة من واحد صحيح فى الجيل الأول إلى ٣,٥٧ فى الجيل السابع لعزلة الفطر سكليروشيم رولفزيای SG10 . أما مع المبيد الفطري الريزولكس فقد انخفض معدل التثبيط على تركيز واحد جزء فى المليون من ٩٧,٨% فى الجيل الأول إلى ٣,٧% فى الجيل السابع ، مما أدى لزيادة قيم الـ EC50 من ٠,٥٧ جزء فى المليون فى الجيل الأول إلى ١,٧٨ جزء فى المليون فى الجيل السابع ، كما ارتفع عامل المقاومة من واحد صحيح إلى ٣,١٢ فى الجيل السابع ومن جهة أخرى فقد أظهرت عزلة الفطر سكليروشيم رولفزيای تأثيرات ضعيفة على اكتساب صفة المناعة المكتسبة للمبيد الفطري مونسرین .

٨. عند دراسة تأثير تعريض كلا من عزلتي SG2 , SG10 للفطر سكليروشيم رولفزيای (الحساستين للمبيدات الفطرية بنليت ومونسرین وريزولكس) للأشعة فوق بنفسجية لفترات زمنية مختلفة (٠ ، ٥ ، ١٥ ، ٣٠ ، ٤٥ دقيقة) ثم

تتميتها على بيئات غذائية تحتوى على تركيزات مختلفة من المبيدات تبين ما يلى:

٨-١- اكتسب كلا العزلتان SG2 , SG10 مقاومة للمبيد الفطرى المونسرين واختلف التأثير بتباين فترات التعريض ، إلا أن العزلة SG2 فقد تأثرت بدرجة أكبر من العزلة SG10 وكان أعلى قيمة لعامل المقاومة هو ٤٢,٥ وقد تم الحصول عليه بتعريض العزلة SG2 للأشعة فوق البنفسجية لمدة ٤٥ دقيقة ، وأظهرت النتائج أيضاً أن تعريض العزلة SG2 للأشعة فوق البنفسجية لمدة ٥ دقائق أدت إلى زيادة عامل المقاومة إلى ٦,٧٢ مقارنة بواحد صحيح فى معاملة الكنترول ، بينما أدى تعريض نفس العزلة SG2 للأشعة فوق البنفسجية لمدة ١٥ ، ٣٠ دقيقة إلى زيادة عامل المقاومة إلى ١,٩ ، ٢,٧٦ على الترتيب . أما بالنسبة للعزلة SG10 فقد أدى تعرضها للأشعة لمدة ٥ دقائق إلى زيادة درجة حساسيتها للمبيد الفطرى المونسرين بينما زاد عامل المقاومة إلى ٦,٦٦ ، ٧,٨٢ عند تعريض هذه العزلة للأشعة لفترات أطول وهى ١٥ ، ٤٥ دقيقة على الترتيب .

٨-٢- أظهرت النتائج أن تعريض العزلات SG2 , SG10 للأشعة فوق البنفسجية لم تؤثر بدرجة كبيرة على زيادة اكتساب صفة المقاومة سواء للمبيد الفطرى الريزولكس أو البنليت .

٩. عند دراسة تأثير درجات الحرارة على اكتساب المقاومة تبين ما يلى :

٩-١- أظهرت درجات الحرارة المختلفة تأثيراً طفيفاً على اكتساب صفة المقاومة بالنسبة لعزلة SG10 للفطر سكليروشيم رولفزياى بعد تعريضها للأشعة فوق بنفسجية حيث تبين أن درجة الحرارة الأقل من المثلى (٢٥ ° م) أدى إلى زيادة مقاومة هذه العزلة للمبيد الفطرى المونسرين فقط وقد حدث تأثير مشابه عند تعريضها لدرجة الحرارة الأعلى من درجة الحرارة المثلى (٣٥ ° م) حيث ارتفع عامل المقاومة من واحد صحيح على درجة الحرارة المثلى (٣٠ ° م) إلى ١,٨٤ على درجة ٢٥ ° م ، ١,٤٦ على درجة ٣٥ ° م.

٩-٢- أظهرت درجات الحرارة تأثيراً إيجابياً على اكتساب الفطر ماكروفومينا فاسيولينا للمقاومة ضد المبيد الفطرى المونسرين حيث أدت درجة الحرارة ٢٥ ° م إلى انخفاض عامل المقاومة إلى ٠,٨٣ مقارنة بواحد صحيح على درجة الحرارة المثلى (٣٢ ° م) كما انخفضت قيمة EC50 من ٤٨,٥٢ على درجة الحرارة المثلى إلى ٤٠,٥٢ على درجة الحرارة وعلى عكس ذلك ظهر تأثير عكسى لدرجات الحرارة الأعلى من درجة الحرارة المثلى (٣٧ ° م)

حيث زاد عامل المقاومة إلى ٢,٧٦ مقارنة بواحد صحيح على درجة الحرارة المثلى وزادت قيمة الـ EC50 عند درجة الحرارة الأعلى من المثلى إلى ١٨,٧٦ على درجة ٣٧° مقارنة بـ ٤٨,٥٢ على درجة الحرارة المثلى (٣٢° م) .

٩-٣- أظهرت درجات الحرارة تأثيراً طفيفاً على اكتساب صفة المقاومة في الفطر ماكروفومينا فاسيولينا للمبيد الفطري الريزولكس وارتبطت صفة اكتساب المقاومة إيجابياً بازدياد درجات الحرارة فدرجات الحرارة المنخفضة الأقل عن المثلى (٢٥° م) أدت إلى نقص عامل المقاومة والـ EC50 إلى ٠,٩٧ ، ١٥٠ جزء في المليون على الترتيب مقارنة بواحد صحيح ، ١٥٣,٤١ جزء في المليون على درجة الحرارة المثلى (٣٢° م) ، كما أدى التعريض لدرجة الحرارة أعلى من المثلى (٣٧° م) إلى زيادة عامل المقاومة إلى ١,٣٧ ، وزيادة قيمة EC50 إلى ٢١١,٥٤ جزء في المليون .

٩-٤- أظهرت درجات الحرارة تأثيراً عكسياً على اكتساب الفطر ماكروفومينا فاسيولينا لصفة المقاومة للمبيد بنليت كمقارنة بتأثيرها على اكتساب صفة المقاومة لكل من المبيدين مونسرين أو ريزولكس ، ولقد ارتبطت درجة المقاومة سلبياً بزيادة درجات الحرارة ، فدرجة الحرارة الأقل من المثلى (٢٥° م) أدت لزيادة عامل المقاومة والـ EC50 إلى ١,١٢ ، ٢,٥٣ جزء في المليون على الترتيب وذلك بالمقارنة واحد صحيح ، ٢,٢٤ على درجة حرارة المثلى (٣٢° م) فأدى تعريض الفطر لدرجة الحرارة الأعلى من المثلى (٣٧° م) إلى تناقص عامل المقاومة إلى ٠,٨٩ وانخفاض قيمة EC50 إلى ٢ جزء في المليون .

١٠. تبين أن اكتساب صفة المقاومة للمبيدات الفطرية له تأثير على الصفات المورفولوجية للفطرين محل الدراسة :

١٠-١- العزلة المقاومة من الفطر ماكروفومينا فاسيولينا (MB1) تميزت بمعدل نمو أسرع وإنتاج غزير للأجسام الحجرية ، وقد تراوح متوسط نصف قطر الجسم الحجري فيها ٨٤,٥ ميكرون مع تميز النمو الفطري بلون رمادي داكن ووجود حواف دائرية بيضاء اللون قطنية المظهر .

١٠-٢- أظهرت العزلة المقاومة من الفطر سكليروشيم رولفزيي (SI3) معدلاً أبطأ في النمو عن العزلة الحساسة (SG10) وإنتاجاً غزيراً للأجسام الحجرية كما تميزت هذه العزلة المقاومة بنمو أبيض اللون قطنى المظهر مع تركيز تكوين الأجسام الحجرية في مركز الطبق ، وتميزت الأجسام

الحجرية فيها بأنها أقل وزناً من العزلة الحساسة ، وكان متوسط نصف قطر الجسم الحجرى ١,١٧ سنتيمتر .

١١. تم تقدير النشاط الانزيمى لإنزيمات السيليوليز (CX) وبولى جلاكوزونيز (PG) وبكتير ميثيل استريز (PME) فى عزلة حساسة وأخرى مقاومة لكلا من الفطرين محل الدراسة وتبين أن :

١١-١- تزايد النشاط الانزيمى لإنزيمات (CX) , (PG) فى العزلة المقاومة لقطر سكليروشيم رولفزيى (MI3) عنها فى العزلة الحساسة (SG10) بينما أظهرت النتائج عكس ذلك بالنسبة للنشاط الإنزيمى لإنزيم (PME) حيث كان نشاط الإنزيم فى العزلة المقاومة أقل منها فى العزلة الحساسة .

١١-٢- أظهرت العزلة المقاومة من الفطر ماكروفيومينا فاسيولينا (MB1) نشاطاً إنزيمياً أقل فى حالة إنزيمات (CX) , (PG) عن الذى سجل للعزلة (MG2) ولم تظهر فروق معنوية بين كلا من العزلتين المقاومة والحساسة فيما يخص النشاط الانزيمى لإنزيم (PME) .

١٢. بدراسة تأثير اكتساب صفة المقاومة على القدرة المرضية للفطرين محل الدراسة تحت ظروف الصوبة تبين مايلى :

١٢-١- ظهرت فروق كبيرة فى القدرة المرضية بين عزلة الفطرماكروفيومينا فاسيولينا الحساسة MG2 وبين العزلة المقاومة (MB1) مما يعنى أن اكتساب صفة المقاومة يؤدي إلى انخفاض القدرة المرضية للفطر ماكروفيومينا فاسيولينا .

١٢-٢- لم تظهر فروق ملحوظة فى القدرة المرضية لعزلتى الفطر سكلروشم رولفزيى سواء الحساسة (SG10) أو المقاومة (SI3) برغم أن كليهما أظهرت قدرة مرضية عالية فى إحداث مرض عفن الجذور فى نباتات الفاصوليا .

سابع عشر : " دراسة تطور المقاومة المكتسبة للمبيدات الفطرية فى فطر
بيروكيلولاريا أوريزى المسبب لمرض اللقحة فى الأرز وعلاقتها
بالعوامل البيئية "

رسالة مقدمة من الطالبة / مرفت رفعت هلال للحصول على درجة الفلسفة فى
العلوم البيئية من قسم العلوم الزراعية- معهد الدراسات والبحوث البيئية- جامعة عين
شمس عام ١٩٩٩ - تحت إشراف أ.د. مصطفى حلمى مصطفى ، أ.د. سمير عبد
العزیز ، أ.د. محمد مصطفى .

يعتبر محصول الأرز من المحاصيل الرئيسية فى مصر وعديد من دول العالم كما
يعتبر أحد المصادر الرئيسية للدخل القومى فى مصر وتبلغ متوسط المساحة المنزرعة
سنوياً فى مصر حوالى مليون فدان .

من أهم الأمراض التى تصيب محصول الأرز مرض اللقحة . تم تسجيل هذا
المرض فى عديد من المحافظات وأدى إلى خسائر كبيرة على الصنف اليابانى - نهضة -
ريهو حيث بلغت هذه الإصابة حوالى ٥ - ٥٠% خاصة على الصنف ريهو .

ومن الطرق المستخدمة للحد من أضرار ذلك المرض استخدام الأصناف المقاومة
والمبيدات .

تعد اكتساب الكائنات المرضية لصفة المقاومة للمبيدات الموصى بها من المشاكل
الرئيسية فى الآونة الأخيرة حيث تمت دراسة العوامل المؤثرة على تطور المقاومة ودرس
قدرة العزلات المختلفة على إحداث الإصابة وعلاقتها بالمقاومة المكتسبة للمبيدات كما
درست الصفات المورفولوجية والفسولوجية للفطر مرتبطة بنموذج للتنبؤ بالمقاومة
المكتسبة للمبيدات وعمل استراتيجيات لمقاومة المرض .

ويمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها فى هذه الدراسة فيما يلى :

تم جمع ١٩ عزلة من المحافظات المختلفة لمدة ٣ أعوام متتالية وكانت كالتالى :

- ١- ١٣ عزلة لموسم ١٩٩٣ - مقسمة كالتالى - من محافظة الغربية (٣) عزلة ،
(٣) عزلة من الشرقية ، ٧ عزلة من كفر الشيخ الموسم الثانى لعام ١٩٩٥ ،
٣ عزلة من كفر الشيخ الموسم الثالث لعام ١٩٩٦ (١) عزلة من كفر الشيخ ،
(١) عزلة من قطور ، (١) عزلة من بسيون .

- ٢- قدرت مستويات المقاومة للميسيليوم والجراثيم لعزلات الفطر المختلفة حيث تأثرت العزلات بالتركيزات المختلفة للمبيدات الثلاث الهينوزان - فوجى - بيم .
- ٣- وجد اختلاف معامل المقاومة لعزلات المنطقة الواحدة وكان سخا $193 = 6$ ، سخا $293 = 2,5$ ، سخا $393 = 1$ ، سخا $493 = 2,3$ فى مبيد الفوجى - ون . بينما كانت فى مبيد البيم 180 ، $3,2$ ، 4 ، $23,5$ على التوالي أما فى الهينوزان كانت 12 ، $1,2$ ، $3,8$ ، $1,1$ على التوالي .
- ٤- كما اختلفت سلوك العزلات من التركيزات المنخفضة إلى التركيزات العالية فى المبيدات المختلفة .
- ٥- وجد مقاومة متبادلة على التركيزات العالية للهينوزان والبيم وعلى الوجه الآخر الفوجى والبيم ، كما وجد مقاومة ضعيفة ما بين الهينوزان والفوجى - ون .
- ٦- كمية العزلة الحساسة جيزة ٩٣١ على بيئة مسممة بجرعة منخفضة من المبيد ١٠ جزء فى المليون خلال ٦ أجيال متتالية وجد أنها تزيد بها المقاومة للمبيدات المختلفة .
- ٧- بتكرار الزراعة للعزلة فلبن ٢٩٣ على بيئة موز غير مسممة ولتأكيد الرأى السابق لوحظ فى حالة مبيد البيم وجد فقد للمقاومة . وعلى ذلك يتواجد تناقض للرأى السابق وذلك نتيجة لتداخل عديد من العوامل أى تواجد عامل أساسى لاكتساب صفة المقاومة لهذا الفطر .
- ٨- بدراسة تأثير الأشعة فوق البنفسجية نتجت طفرات لمبيد البيم ، الفوجى - ون ولم تنتج طفرات لمبيد الهينوزان . بدراسة تأثير الرطوبة مع اكتساب صفة المقاومة للمبيدات أظهرت الفطر مستوى عالى من المقاومة لمبيد الهينوزان والبيم والفوجى - ون عند ١٠٠% رطوبة وبانخفاض درجات الرطوبة تنخفض المقاومة للمبيدات . بدراسة تأثير درجات الحرارة وارتباطها بالمقاومة المكتسبة شوهد تأثير واضح لمبيد الهينوزان بينما فى مبيد البيم وجد أن المقاومة للعزلات تختلف باختلاف درجات الحرارة ، وهذا واضح

للعزلات المقاومة - متوسطة - الحساسية . كما يتواجد ارتباط موجب بين درجات الحرارة ومستويات المقاومة . على الوجه الآخر وجد ارتباط سالب معتدل مع المقاومة لمبيد الفوجى - ون .

٩- وبدراسة الشكل المورفولوجى مع المقاومة للمبيدات لفطر اللفحة فى محصول الأرز شوهد ارتباط سالب معنوى بين المقاومة للهينوزان مع أعداد الجراثيم . بينما مبيد الفوجى ون شوهد ارتباط سالب معتدل بين أعداد الجراثيم والمقاومة للمبيد . أيضاً شوهد ارتباط ضعيف بين أعداد الجراثيم والمقاومة للبيم .

١٠- وبتقدير نشاط الإنزيم بولى فينيل أوكسيديز للخمس عزلات مع مستويات المقاومة شوهد تأثير واضح للخمس عزلات مع ارتباط واضح لنشاط الإنزيم والمقاومة للمبيدات .

١١- لوحظ ارتباط ضعيف بين نشاط إنزيم بيرواوكسيديز (ميسليوم راشح) مع المقاومة للفوجى - ون والبيم كما يتواجد ارتباط عالى بين نشاط إنزيم بيرواوكسيديز والمقاومة للهينوزان .

١٢- وبتقدير نشاط إنزيم حمض اسكوربيك مع المقاومة للمبيدات وجد ارتباط ضعيف بين نشاط الإنزيم والمقاومة للهينوزان ولم يوجد أى نشاط ملحوظ بين أنزيم حمض اسكوربيك وأى مبيد آخر .

١٣- سجل ارتباط ضعيف بين نشاط إنزيم بولى جلاكتورينيز (PG) مع المقاومة للفوجى - ون ومبيد البيم ولم يلاحظ أى ارتباط بمبيد الهينوزان .

١٤- وجد ارتباط ضعيف ما بين نشاط PEM (بكتيك ميثيل استيريز) والمقاومة لمبيد الفوجى - ون وأيضاً ارتباط موجب ما بين نشاط الإنزيم ومبيد البيم والهينوزان .

١٥- لوحظ ارتباط موجب ما بين نشاط إنزيم السلوليز ومبيد الفوجى - ون ولا يتواجد ارتباط ما بين نشاط الإنزيم مع مبيد البيم بينما وجد ارتباط سالب ما بين نشاط إنزيم السلوليز مع مبيد الهينوزان .

١٦- وبدراسة العلاقة ما بين المقاومة المكتسبة للمبيدات مع قدرة الفطر على إحداث الإصابة لوحظ اختلاف لمستوى المقاومة لمبيد الهينوزان مع حدوث الإصابة لثلاث عشرة عزلة كما لوحظ اختلاف شدة الإصابة على الأصناف الآتية : صنف جيزة ١٥٩ حساس جداً للإصابة وجيزة ١٧١ متوسط المقاومة بينما صنف جيزة ١٧٦ كان عالى المقاومة .

١٧- استخدمت النتائج المتحصل عليها لتطوير المعادلة الرياضية للتنبؤ بالمقاومة المكتسبة حيث استخدم برنامج المعادلة الرياضية التى سبق وصفها بواسطة شين ١٩٨٧ وذلك لتطويرها لتلائم مع فطر اللفحة فى الأرز .

فى حالة المعاملة الخاصة بشين ١٩٨٧ يجب أن يتم تقدير جميع مكونات المعادلة وحسابها . أما المعادلة التى تم تطويرها فقد وصفت بأقل المجهودات ويمكن إعطاء القرار فى أسرع وقت لهذا الغرض ثم حساب معظم مكونات المعادلة مسبقاً حيث :

١- تم حساب قدرة الطرز المقاومة على إحداث الإصابة بالنسبة للطرز الحساسة وتم استبدال العامل المتغير فى المعادلة بقيم عددية ثابتة موضوع فى الاعتبار قدرة نسبة الطرز المقاومة على إنتاج الجراثيم .

٢- كما تم تقدير عدد الأجيال (٣) من الفطر التى تتعرض للمبيد خلال الموسم تحت الظروف المصرية ، وهذا الرقم أيضاً تم إدخاله فى المعادلة بدلاً من المعامل المتغير وبواسطة المعادلة الجديدة يمكن إعطاء القرار خلال ٢٤ ساعة .

٣- من المعادلات الثلاثة تم الحصول عليها حيث لوحظ أن المقاومة للهينوزان والبيم تنقص بزيادة عدد الأجيال المعرضة للمبيد كما لوحظ أن هذا التناقص أسرع فى حالة البيم عنه فى حالة الهينوزان بعكس المقاومة للقوقى ون حيث يزداد بزيادة عدد الأجيال .

ثامن عشر : "دراسات على المقاومة المستحثة ضد صدأ الساق الأسود فى القمح"
رسالة مقدمة من الطالبة / دعاء راغب محمد عزب النجار للحصول على درجة
الماجستير فى العلوم الزراعية (أمراض نبات) من قسم النبات الزراعي - كلية الزراعة
جامعة الزقازيق عام ١٩٩٨ تحت إشراف أ.د. محمد رضا أحمد توهامى ، د. نبيلة
الشريف .

يعتبر محصول القمح من أهم المحاصيل الاستراتيجية فى العالم وبصفة خاصة فى
مصر . يزرع القمح فى مساحة ٢,٤٨٣,١٣١ فدان (موسم ١٩٩٦ / ١٩٩٧) أنتجت
٥,٨ مليون طن تغطى حوالى ٦٠% من الاستهلاك المحلى . أجريت عدة تجارب تحت
ظروف الصوبة والحقل لاستحداث المقاومة ضد مرض صدأ الساق المتسبب عن قطر
بكسينيا جرامينيس تحت نوع تربتساي . فى هذه التجارب استخدمت بعض منظمات النمو
(الإيثيفون، حمض الجبريليك) أيونات الكوبلت وحمض الساليسليك لدراسة تأثيرها على
بعض الصفات الخاصة بقياس شدة المرض لمرض صدأ الساق . أيضاً تم دراسة تحليل
التركيب الكيماوى للنباتات المصابة . ويمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها فى هذه
الدراسة كما يلى :

١- اختلفت النسبة المئوية التكرارية للسلاسل المختلفة لفطر بكسينيا جرامينيس تحت
نوع تربتساي من موسم لآخر خلال مواسم ١٩٩٤ ، ١٩٩٥ ، ١٩٩٦ . وبصفة
عامة كانت السلالة رقم ١١ تحتل المكانة الأولى فى مواسم ١٩٩٣ / ١٩٩٤ ،
١٩٩٤ / ١٩٩٥ تليها السلالات أرقام ١٧ ، ١٩ ، ٣٩ .

٢- فى تجربة اختبار الأصناف كان الصنف جيزة ١٦٣ متوسط المقاومة بينما كانت
الأصناف جيزة ١٥٥ ، ١٦ ، ١٦٢ ، سخا ٩٦ وسخا ٩٢ قابلة للإصابة .

٣- فى تجربة نقع الحبوب كان الإيثيفون هو أكثر منظمات النمو تأثيراً فى خفض
النسبة المئوية لإنبات الجراثيم اليوريدية لفطر بكسينيا جرامينيس تحت نوع
تربتساي إلى ٥٤,١٩% يليه أيونات الكوبلت (٧٩,٢٣%) وفى النهاية حمض
الجبريليك (٨٣,١٢%) مقارنة بالنباتات المصابة (٩٣,٧%) .

٤- أحدثت جميع التركيزات المستخدمة من منظمات النمو زيادة فى متوسط فترة الحضانة من ١٤ يوم فى النباتات المصابة إلى ١٤,٦ يوم فى النباتات المعاملة بالايثيفون والكوبلت و ١٥ يوم عند استخدام حمض الجبريليك .

٥- سبب كل من الكوبلت وحمض الجبريليك انخفاضا فى طراز الإصابة من ٤ إلى ٣,٦ .

٦- حدث انخفاض معنوى فى عدد البثرات لكل سم ٢ عند استخدام أى تركيز من منظمات النمو مقارنة بالنباتات المصابة غير المعاملة .

٧- فى تجربة الرش سبب كل من الايثيفون عند تركيز ١٠٠ ، ١٥٠ جزء فى المليون وجميع تركيزات حمض السلسليك المستخدمة رشاً على النباتات بعد ٢٤ ساعة من العدوى تحولاً فى طرز الإصابة للنباتات من شديدة القابلية للإصابة إلى متوسطة القابلية للإصابة .

٨- أحدث حمض السلسليك عند ٧,٥ جزء فى المليون رشاً على النباتات تغيراً فى طرز الإصابة من شديدة القابلية للإصابة (٤) إلى منيعة (صفر) سواء كان الرش قبل أو بعد العدوى .

٩- زادت فترة الحضانة من ١٤ إلى ١٥ يوم عند استخدام كل من منظمات النمو والكوبلت وحمض السلسليك رشاً على النباتات قبل أو بعد العدوى بـ ٨ ساعات .

١٠- انخفض متوسط عدد البثرات لكل سم ٢ معنوياً عند استخدام كل من منظمات النمو والكوبلت وحمض السلسليك رشاً بعد العدوى ومع ذلك سبب حمض السلسليك والايثيفون خففاً فى متوسط عدد البثرات لكل سم ٢ سواء استخدم قبل أو بعد العدوى .

١١- زادت فترة الحضانة فى أصناف القمح المختبرة جيزة ١٦٠ ، جيزة ١٦٣ وسخا ٩٦ عند نقع بذورها فى منظمات النمو والكوبلت مقارنة بالنباتات غير المعاملة .

١٢- أحدثت منظمات النمو والكوبلت تغيراً فى طرز الإصابة للصنف جيزة ١٦٠ من شديد القابلية للإصابة إلى متوسط القابلية للإصابة ، جيزة ١٦٣ من متوسط

المقاومة إلى شديد المقاومة في حين أن الصنف سخا ٩٦ تغير من متوسط القابلية للإصابة إلى شديد القابلية .

١٣- انخفض عدد البثرات لكل سم ٢ على نباتات القمح النامية من بذور سبق نقعها في منظمات النمو والكوبلت . وكان الانخفاض ٦٧,٦٩% في الصنف جيزة ١٦٣ ، ٣٥,٠٦% في الصنف سخا ٩٦ ، ٣٣,٥٦% في الصنف جيزة ١٦٠ .

١٤- زادت فترة الحضانة ولم يحدث تغير في طرز الإصابة في حين انخفض متوسط عدد البثرات لكل سم ٢ عند استخدام منظمات النمو والكوبلت كنقع البذور ورش نباتات القمح مقارنة بالنباتات غير المعاملة .

١٥- انخفضت شدة مرض صدأ الساق معنوياً وعدد البثرات وكذا حجم البثرة عند استخدام منظمات النمو والكوبلت في معاملة النباتات البالغة واختلفت هذه النتائج طبقاً للصنف المختبر ومنظم النمو والتركيز المستخدم .

١٦- أوضحت نتائج تجربة العدوى في مراحل مختلفة من نمو النبات أن نقع بذور القمح في الايثيفون والكوبلت أو رش النباتات بحمض السلسيليك سببت انخفاضاً معنوياً في شدة مرض صدأ الساق والمساحة تحت منحنى المرض بالإضافة إلى متوسط عدد البثرات لكل سم ٢ في صنف القمح جيزة ١٦٠ المعدى قبل أو أثناء طور الحمل . وكان حمض السلسيليك أكثر تأثيراً يليه الايثيفون ثم الكوبلت .

١٧- أوضحت نتائج الحقل في مواسم ١٩٩٣ / ١٩٩٤ ، ١٩٩٤ / ١٩٩٥ أن منظمات النمو والكوبلت سببت خفصاً في شدة مرض صدأ الساق وحدثت تغيراً في طراز الإصابة حيث تحولت النباتات متوسطة القابلية للإصابة إلى نباتات مقاومة .

١٨- زاد عدد الحبوب في السنبلة ووزن المحصول لكل وحدة تجريبية وكذا وزن القش . ومن ناحية أخرى لم يحدث تغير معنوي في وزن ١٠٠٠ حبة نتيجة لاستخدام منظمات النمو والكوبلت .

١٩- انخفض نشاط إنزيم البولى فينول أوكسيديز والبيروكسيديز في النباتات المصابة مقارنة بالنباتات السليمة سواء في الصنف المقاوم (جيزة ١٦٣) أو الصنف القابل للإصابة (جيزة ١٦٠) .

٢٠- انخفاض نشاط إنزيم البولى فينول أوكسيديز والبيروكسيديز فى النباتات المصابة غير المعاملة بأى من منظمات النمو أو التركيزات المنخفضة منها فى حين أن نشاط هذه الإنزيمات ارتفع فى النباتات المصابة والمعاملة بمنظمات النمو والكوبلت .

٢١- زاد محتوى النباتات من الكلوروفيل أ ، ب وكذا الكاروتينات فى النباتات المعاملة بمنظمات النمو والكوبلت وكان الصنف جيزة ١٦٣ أكثر تأثراً والصنف جيزة ١٦٠ متوسط التأثير فى حين أن الصنف سخا ٦٩ كان أقلهم تأثراً بمنظمات النمو .

٢٢- زادت الفينولات الحرة والكلية والمرتبطة فى النباتات المعاملة بالتركيزات المرتفعة من منظمات النمو والكوبلت مقارنة بالنباتات المصابة وغير المعاملة .

٢٣- قاومت جميع المبيدات المستخدمة مرض صدأ الساق تماماً فيما عدا التركيزات المنخفضة من المبيد كيماز .

٢٤- زاد الكلوروفيل أ ، ب فى النباتات المعاملة بالمبيدات فى حين انخفضت الكاروتينات .

الكتب والمقالات والمشروعات البحثية التى استعنت بها فى اعداد هذا الكتاب

١-	المضادات الحيوية والمقاومات الثلاثة (مكتسبة - مستحثة - حيوية) ودورها فى أمراض النبات
	تأليف : أ.د. محمود موسى أبو عرقوب
	أستاذ أمراض النبات - كلية الزراعة
	أستاذ زائر فى بعض جامعات الدول العربية
	الناشر : المكتبة الأكاديمية - شركة مساهمة مصرية ٢٠٠٢
٢-	" Induced resistance for plant defence "
	A sustainable approach to crop protection -
	Dale Ivalters , Adrian Newton and Gary Lyon

Black-vell publishing , 2007	
" Induced plant resistance to herbivory "	-٣
Andreas schaller	
Springer , 2008	
العديد من المقالات المنشورة على قاعدة المعلومات الدولية (الانترنت)	-٤
رسائل الماجستير والدكتوراة التي نوقشت وأجيزت في كليات الزراعة جامعة عين شمس والقاهرة والزقازيق وبنها	-٥
مشروع محول من أكاديمية البحث العلمي والتكنولوجيا في الخطة الخمسية ٢٠٠٢ / ٢٠٠٧ للباحث الرئيسي أ.د. مصطفى حلمي مصطفى أستاذ أمراض النبات بكلية الزراعة جامعة عين شمس بعنوان : " دراسة فاعلية المستخلصات الطبيعية والبيولوجية في تنشيط ظاهرة المقاومة الجهازية المكتسبة في العوائل النباتية ضمن إطار مكافحة المتكاملة للآفات " .	-٦

مصطلحات

A

Abiotic stress	الاجهاد الحيوى
Agriculture	الزراعة
Agrochemicals	الكيميائيات الزراعية
Alkalinization	استجابة الالكلة
Alkaloids	الكالويدز
a- Amylase inhibitor	مثبط الفا - أميليز
Allelochemicals	الليلو كيميكل
Allocation costs	تكاليف التعيين أو التخصيص
Anthocyanidin synthase	أنثوسيانيدين سينسيز
Antinutritive enzmes	انزيمات مضادة للتغذية
Appeareney, appearence	الظهور
Arabidopsis defense –related peptides (AtPeps)	الببتيدات المرتبطة بالدفاع فى الأرابيدوبسيس
Arginase	أنزيم أرجينيز
Aromatic Volatiles	المواد العطرية المتطايرة
Autotoxicity	تكاليف السمية الذاتية

B

Benzenoid compounds	مركبات بنزينويدز
---------------------	------------------

C

Cacliferin	كالسيفرين
Calcium oxalate	أكسالات الكالسيوم

Callose	الكالوس
Cardenolides	كاردينوليدات
(E) – B – Carpophyllene	B – (E) كاربوفيلين
Cellulose	سليلوز
Chalcon isomerase (CHI)	إنزيم كالكون أيزوميريز (CHI)
Chalcone synthase (CHS)	إنزيم كالكون سينسيز (CHS)
Cinnamate -4- hydroxylase (C4H)	إنزيم سيناميت -٤- هيدروكسيليز (C4H)
Cinnamoyl – CoA Oxidoreduetase (CCR)	إنزيم سينامويل CoA أوكسيدوريدكتيز (CR)
Community structure	تركيب الجماعة
Constitutive resistance	المقاومة التكوينية
Coronatine	كوروناتين
Coronatine – insensitive (COII)	الكوروناتين غير الحساس (COII)
Costs	التكاليف
Coumarate -3- hydroxylase (C3H)	إنزيمات كوماترات -٣- هيدروكسيليز (C3H)
4- Coumaroyl – CoA ligase (4CL)	إنزيم ٤- كوماويل - CoA ليجيز (4CL)
Crop protection	وقاية المزروعات
Cuticle	الجليد
Chemical composition	التركيب الكيميائي
Cyanogenic glucosides	الجلوكوسيدات السيانوجينية
Cytochrome P450 dependent monooxygenase	المونواكسجينيز المعتمد على السيتوكروم بي ٤٥٠

D

Defense	الدفاع
Deoxyhypusine synthase (DHS)	إنزيم ديوكسى بيوسين سينسيز (DHS)
Dihydroflavonol , 4- reductase	إنزيم ديهيدروفلافونول -٤- ريدكتاز
Dirgent proteins	البروتينات القابلة للتوجيه

E

Ecological	بيئي
Ecosystem	نظام بيئي
Elicitation studies	دراسات التحفيز
Elicitor	محفز
Environmental stress	الإجهاد البيئي
Essential amino acids	الأحماض الأمينية الضرورية
Ethylene (ET)	إيثلين (ET)
Extrafloral nectar (EFN)	رحيق الأزهار (EFN)

F

(E) - & - farnesene	(E) - & - فارنيسين
Fatty acid – amino acid conjugates (FAC)	مقترنات الحمض الدهنى – الأمينى
F – box protein	بروتين إف – بوكس
Feeding guild	طائفة التغذية
Fitness	اللياقة
Flavonoids	الفلافونويدز
Flavonoid 3- hydroxylase	إنزيم فلافونويد ٣- هيدروكسيليز

G

Galactolipids	جالاكتوليبيدات
Gene	جين
Genetic	وراثية
Glabrous	عارى - خالى الشعيرات
Glucosinolate	جلوكوسينولات
Grafting	التطعيم
Green leaf volatiles	المواد المتطايرة للأوراق الخضراء

H

Hemolymph	هيموليمف
Homospermidine synthase (HSS)	إنزيم هوموسبيرميدين (HSS)
Host	العائل
Hydrogen peroxide	إيدروجين بيروكسيد
Hydroxyproline – rich systemin glycopeptides (HypSys)	هيدروكسى برولين - جليكوبيبتيدات الغنية بالسيستمين
Hyperparasitoid	شبيه الطفيل ذات التطفل المتزايد

I

Indole	إندول
Infochemicals	كيمائيات المعلومات
Insect	حشرة
Interaction	التداخل

J

JA - Ile	حمض جسمونيك Ile
Jasmonate ZIM domain proteins (JAZproteins)	بروتينات الجسمونات ZIM

Jasmonic acid (JA) or jasmonates

حمض جسمونيك (JA) أو الجسمونات

L

Latex (lattices)

لاتكس

Leaf toughness

خشونة الورقة النباتية

Lectins

لكتينات

Ligning / lignification

اللجنة

Linkage

الرابط

Linolenic acid

حامض لينولينيك

Lipocalin

ليبوكالين

Lipoxygenase

إنزيم ليبوجينيز

Locomotion

الحركة

M

MAP kinase (MAPK)

إنزيم MPA كينيز (MAPK)

MEROPS database

قاعدة بيانات Merops

Metabolites (metabolism)

نواتج التمثيل (التمثيل)

Methylerythritol phosphate
(MEP) pathway

مسار ميثيل اريثريتول فوسفات (MEP)

Methyl jasmonate (MeJA)

ميثيل جسمونات (Me SA)

Methyl salicylate (Me SA)

ميثيل ساليسيلات (Me SA)

Mevalonic acid (MEV) pathway

مسار حامض ميفالونيك (MEV)

Microarray

الترتيب الدقيق

Mimicry

المحاكاة

Moving – target model

نموذج الهدف المتحرك

Mustard trypsin inhibitor (MTI)

مثبط تربسين الخردل (MII)

Mutant studies

دراسات الطفرية

N

Nectar

رحيق

Nicotne

نيكوتين

Nitric oxide (NO)synthase (NOS)

إنزيم نثريك اكسيد (No) سينسيز

N- recycling pathway

مسار تدوير النروجين

O

Octadecanoid pathway

مسار اوكتاديكانويد

Octadecanoid signaling

إشارات اوكتاديكاتويك

Oleoresin

أولييورانتج

Olfactory assays (or olfactometer)

تحليل الشم (جهاز قياس الشم)

Oligogalacuronides (OGAs)

أوليغوجا لأكورنيويدز

Optimal defense theory

نظرية الدفاع الأمثل

Oviposition

التبويض

Oxophytodienotae reductase
(OPR3)

إنزيم أوكسوفيتودينوات ريدكتيز (OPR3)

12- Oxe –phytodienoic acid
(OPDA)

حامض ١٢ - أوكسو - فيتودينويك

B- Oxidation

الأكسدة - بيتا

Oxylipin signature

بصمة أوكسي ليبين

P

Parasitoid

شبيه الطفيل

Pathogen invasion

غزو الممرض

Perfuming

التعصيد

Periderm

البشرة الخارجية

Periderm development	تطور البشرة الخارجية
Peritrophic membrane	الغشاء حول الغذائي
Pharmacophagy	الالتهام الصيدلاني
Phellogen	فيللوجين
Phenolics	فينولية
Phenotypic plasticity	مرونة فينولية
Phenylalanine ammonia –lyase (PAL)	إنزيم فينيل الانين امونيا – ليبز
Phenylpropanoid pathway (or metabolism)	مسار فينيل بروبواتويدز (أو التمثيل)
Phenylpropenes	فينيل بروبينات
Pheromone	فورمون
Phospholipase	إنزيم فوسفوليبيز
Pollination	التلقيح للأزهار
Polypheolic parenchyma cells (PP cells)	خلايا البرانشيمية عديدة الفيتولات (خلايا PP)
Polyphenol oxidase (PPO)	إنزيم بولى فينول اكسيديز
Post – ingestive defense	دفاع ما بعد التناول
Predator	مفترس
Phenyltransferases	إنزيمات فينيل ترانسفيريزيس
Priming	الإبداء
Prosystemin (proSys)	بروسيتمين (سيستمين أولى)
Proteinase inhibitor	مثبط بروتينيز
Putrescine N –methyl transferase (PMT)	إنزيم بيوتريسين N – ميثيل ترانسفيريز

Pyrrolizidine alkaloids

بيروليزيدين الكالويدز

R

Reproductive output (or success)

مخرجات التناسل (أو النجاح)

Resin

راتنج

Resistance

مقاومة

Resource

المصدر

Ribosome – inactivating proteins
(RIPs)

بروتينات غير منشطة للريبوسوم

S

Salicylic acid (or salicylate)
(SA)

حامض ساليسيليك (أوسا ليسيلات)

Schizogenesis

التوالد بالانفلاق

Scion

طعم

Scotophase

مرحلة الطعم

Seed production

إنتاج البذور

Selection pressure

الضغط الانتخابي

Selective advantage

ميزة الانتخابي

Senecionine

سينكيونين

Senecionine N-Oxygenase

إنزيم سينكيونين - ن - أكسيجينيز

Shikimate pathway

مسار شيكيمات

Sib analysis

تحليل القرابة

Sieve element

عنصر الفرمة

Silica

سيليك

Spines

أشواك

Stone cells

خلايا حجرية

Suberin	سوبيرين
Supply – side hypothesis	فرضية الامداد الجانبى
Systemic acquired resistance (SAR)	المقاومة الجهازية المكتسبة
Systemic wound signaling (systemic wound response)	الإشارات الجهازية بالجرح (استجابة جهازية للجرح)
Systemn (Sys)	سيستمين

T

Tannins	تاتينات
Terpene (terpenoids)	تربين (تريبتويدز)
Terpene (or terpenoid) synthases (TPS)	إنزيمات تربين (أوتريبينويد)
Terpenoid volatiles	المواد المتطايرة ثريبينويدز
Thorns	أشواك
Threonine deaminase (TD)	إنزيم ثريونين دى أمينيز
Tolerance	تحمل
Traumatic resin ducts (TRDs)	قنوات راتنج
Trichome	أشواك
Trophic level	المستوى الغذائى
Trypsin modulating oostatic factor (TMOF)	عامل التربسين المنظم

U

Ubiquitin	يوبىكيوتين (المحدودية)
α & β - Unsaturated carbonyls	الفاوبيتا كربونيل غير المشبع

V

Vascular system	الجهاز الدعائى
Vegetative storage proteins (VSPs)	بروتينات التخزين الخضرى
Volatile aromatic compounds	المركبات العطرية المتطايرة
Volatile terpenes	التربينات المتطايرة
Volatile	متطايرة
Volicitin	فوليسيتين
W	
Wax	شمع
Wound	جرح
X	
Xylem mother cells	خلايا الخشب الأصلية

* مؤلفات الأستاذ الدكتور/ زيدان هندی عبد الحمید

م	اسم الكتب	سنة
١	مقدمة في السيطرة على الآفات الحشرية	١٩٩٠
٢	وقاية النبات والأمن الغذائي	١٩٩٥
٣	الآفات الحشرية والحيوانية	١٩٩٥
٣	الاتجاهات الحديثة في المبيدات ومكافحة الحشرات " ٢ جزء "	١٩٩٥
٤	الملوثات الكيميائية	١٩٩٦
٥	تحليل مبيدات الآفات	١٩٩٨
٦	آفات الخيل والتمور في العالم العربي	١٩٩٩
٧	أنتاج القطن ونظم السيطرة المتكاملة على الآفات	١٩٩٩
٨	السمية البيئية والتفاعلات الحيوية للكيميائيات والمبيدات	١٩٩٩
٩	المكافحة المستتيرة للأمراض النباتية بين الحاضر والمستقبل	٢٠٠٠
١٠	المبيدات الفطرية ومكافحة الأمراض النباتية	٢٠٠٠
١١	انقلاب الجنس وفقد المناعة بين المبيدات والهرمونات	٢٠٠٠
١٢	فساد الأرض وتدمير الإنسان المبيدات / المخدرات / الأدوية / الهندسة الوراثية	٢٠٠٠
١٣	هجوم الإنسان والبيئة المبيدات / الديوكسينات / الدخان الأسود / التليفون المحمول	٢٠٠٠
١٤	الموارد المائية والأتساخ بالمبيدات	٢٠٠١
١٥	ترشيد المبيدات في مكافحة الآفات	٢٠٠١
١٦	السموم النباتية ومكافحة الآفات	٢٠٠١
١٧	التكنولوجيا الحيوية والجزئية في مجابهة الآفات الزراعية والاجدهادات البيئية	٢٠٠١
١٨	خطورة المبيدات على الصحة والبيئة بين التقويم والتقييم والسيطرة	٢٠٠١
١٩	وبائية التعرض المزمن المبيدات بين الصحة العامة والبيئة	٢٠٠٣
٢٠	مستحضرات وتطبيقات المبيدات بين القديم والحديث	٢٠٠٣
٢١	بكتيريا باسيلليس ثوريينجيسيز رائدة المبيدات الحيوية	٢٠٠٣
٢٢	الجاذبات الجنسية " القورمونات "	٢٠٠٤
٢٣	نسخ وتقليد المبيدات	٢٠٠٤
٢٤	الإدارة المتكاملة لمكافحة آفات نخيل التمر	٢٠٠٥
٢٥	تخليق وتصنيع المبيدات (٢ جزء)	٢٠٠٥
٢٦	الإدارة المتكاملة في مكافحة الأعشاب " الحشائش " الضارة	٢٠٠٥
٢٧	مقاومة الآفات لفعل المبيدات (المشكلة والحلول)	٢٠٠٥
٢٨	اساسيات العلوم البيئية الزراعية " تتعليم المفتوح بالمشاركة "	٢٠٠٥

٢٠٠٥	التسمم الغذائي والملوثات الكيميائية	٢٩
٢٠٠٧-٢٠٠٦	الأمان النسبي للمبيدات الميكروبية والحيوية	٣٠
٢٠٠٧-٢٠٠٦	إدارة التعامل مع التسمم بالمبيدات	٣١
٢٠٠٧-٢٠٠٦	التأثيرات الصحية والبيئية للمبيدات والغازات في حرب الخليج	٣٢
٢٠٠٧-٢٠٠٦	المرشد في مكافحة آفات المنازل والصحة العامة- المبيدات والسرطان في الإنسان	٣٣
٢٠٠٧	المبيدات الخطر الداهم على الأطفال والرضع والكبار	٣٤
٢٠٠٧	مبيدات التربة الزراعية	٣٥
٢٠٠٧	المختصر الحديث في علم السموم(التوكسيكولوجي) والمبيدات	٣٦
٢٠٠٧	المبيدات والطاقة	٣٧
٢٠٠٨	مقومات اتخاذ قرار الإدارة المتكاملة للسيطرة على الآفات والمبيدات والأعداء الطبيعية	٣٨
٢٠٠٨	مخاطر المبيدات على الصحة العامة والبيئة	٣٩
٢٠٠٩	كيفية وطرق أحداث فعل المبيدات على الحشرات والنبات والثدييات	٤٠
٢٠٠٩	دليل التداول الأمن بين مستخدمي وتجار المبيدات (التشريع والتدريب)	٤١
٢٠٠٩	تمثيل المبيدات في الكائنات الحية ودورها في تحديد الفاعلية والأضرار البيئية والصحية.	٤٢
٢٠١٠	حماية البيئة " بالمشاركة تعليم المفتوح	٤٣
٢٠١١-٢٠١٠	المعالجة الحيوية لعوادم ومخلفات المبيدات من المكونات البيئية	٤٤
٢٠١١-٢٠١٠	غش المبيدات	٤٥
	* تحت الطبع	
	تحفيز المقاومة في النباتات ضد هجوم الآفات والأمراض النباتية	١
	الإدارة المتكاملة لمكافحة الآفات في الزراعات المحمية	٢
	أخلاقيات التعامل مع المبيدات السليمة والمهجورة والمنتهية الصلاحية	٣
	الأخطار الصحية والبيئية للبلاستيك (ببرونات الأطفال)	٤

رقم الإيداع: ١٦١٤٧/٢٠١٠



أ.د. زيدان هندی عبد الحمید

- * بكالوريوس العلوم الزراعية "حشرات" كلية الزراعة جامعة عين شمس ١٩٦٣.
- * ماجستير العلوم الزراعية "كيمياء مبيدات" كلية الزراعة جامعة عين شمس ١٩٦٦.
- * دكتوراه فلسفة العلوم الزراعية "مبيدات الآفات" كلية الزراعة جامعة عين شمس ١٩٦٩.
- * مدرس في علوم وقاية النبات ١٩٦٩ - ١٩٧٤ بكلية الزراعة جامعة عين شمس.
- * أستاذ مساعد في علوم وقاية النبات ١٩٧٤ - ١٩٧٩ بكلية زراعة جامعة عين شمس.
- * أستاذ في علوم وقاية النبات ١٩٧٩ وحتى الآن بكلية الزراعة جامعة عين شمس.
- * وكيل كلية الزراعة جامعة عين شمس لشئون الدراسات العليا ١٩٩٢ - ١٩٩٨.
- * مستشار علمي لشركة سوميتومو كيميكال اليابانية للمبيدات منذ ١٩٧٨ وحتى الآن في مصر والدول العربية.
- * المشاركة في معظم المؤتمرات المحلية والعالمية في مجالات وقاية النبات - كيمياء المبيدات - مكافحة المتكاملة للآفات - المشاكل الخاصة بالتلوث البيئي.
- * المشاركة في العديد من الدورات الخاصة بالتوعية بمخاطر المبيدات والملوثات البيئية الأخرى في مصر والدول العربية الأخرى.
- * الاشتراك في المشروعات القومية الخاصة بالمكافحة المستنيرة للآفات والتلوث البيئي والمكافحة الحيوية للآفات.
- * عضو في العديد من الجمعيات في مجالات وقاية النبات والبيولوجية الجزيئية وكيمياء المبيدات والتوكسيكولوجي والمبيدات والتلوث البيئي.

